

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA

E.A.P. DE TECNOLOGIA MÉDICA

**“CALIDAD INTRA E INTERLABORATORIAL EN LA
DETERMINACION DE INMUNOGLOBULINA E TOTAL EN
SUERO EN LABORATORIOS DE ANALISIS CLINICOS DE
LIMA – METROPOLITANA”**

TESIS

**Para optar el Título Profesional de
Licenciado en Tecnología Médica en el Área de Laboratorio Clínico y
Anatomía Patológica.**

AUTOR

Ingrid Sarita Torres Guerrero

ASESOR

Miguel Hernan Sandoval Vegas

Lima – Perú

2014

*A mi madre, quien pese a las adversidades
siempre entrega lo mejor de sí misma.*

AGRADECIMIENTOS

A mi madre, Olga Guerrero, por sus palabras de optimismo y motivación; y ejemplo de perseverancia.

A mi padre, Domingo Torres, por inculcarme perseguir las metas trazadas.

A Michael Rivas, por su paciencia, preocupación y apoyo incondicional; y por compartir sus experiencias y objetivos conmigo.

A mis amigas, Cinthia Fajardo, por su participación activa, Kattia Urbina, Selene Bautista y Lourdes Madueño por su amistad, esmero y apoyo durante años.

Al Mg. Miguel H. Sandoval Vegas, por los conocimientos brindados durante los años de formación universitaria.

A los Lic. TM. Medalit Leyva, Jenny Manrique Fong, Manolo León; Dra. Ada Rodriguez, Dr. Armando Moreno por su colaboración en el procesamiento de muestras.

A mi *Alma mater*, por permitirme vivir inolvidables experiencias que influyeron en mi formación académica y personal.

INDICE

Pág.

I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. ANTEDECENTES.....	4
III. IMPORTANCIA.....	13
IV. OBJETIVOS.....	16
V. BASE TEÓRICA.....	18
VI. MÉTODOS.....	27
VII. RESULTADOS.....	33
VIII. DISCUSIÓN.....	53
IX. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	59
X. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICAS.....	61
XI. ANEXOS.....	67

INDICE DE TABLAS

1. Valores de Ig E total según la edad.....	19
2. Distribución de crioviales con suero de “Nivel I” y “Nivel II” respecto a su análisis bajo diferentes metodologías.....	34
3. Estabilidad de la concentración de Ig E total, nivel I, según tiempo de almacenamiento.....	35
4. Estabilidad de la concentración de Ig E total, nivel II, según tiempo de almacenamiento.....	37
5. Precisión y veracidad de la concentración de Ig E total, nivel I, para la metodología ECLIA.....	39
6. Precisión de la concentración de Ig E total, nivel I, para la metodología ELISA.....	40
7. Precisión de la concentración de Ig E total, nivel I, para la metodología QUIMIOLUMINISCENCIA.....	41
8. Ratios y SDI interlaboratorial de las mediciones de IgE total, nivel I, por metodología.....	44
9. Precisión y veracidad de la concentración de Ig E total, nivel II, para la metodología ECLIA.....	46
10. Precisión de la concentración de Ig E total, nivel II, para la metodología ELISA.....	47

11. Precisión de la concentración de Ig E total, nivel II, para la metodología QUIMIOLUMINISCENCIA.....	48
12. Ratios y SDI interlaboratorial de las mediciones de IgE total, nivel II, por metodología.....	51

INDICE DE GRAFICOS

1. Laboratorios participantes en cada ciclo de PECEL.....	8
2. Evolución del PIV y la calidad de diferentes componentes.....	8
3. Evolución del PIV y la calidad de diferentes componentes.....	9
4. Estabilidad de la concentración de IgE total, nivel I, según tiempo de almacenamiento.....	36
5. Estabilidad de la concentración de IgE total, nivel II, según tiempo de almacenamiento.....	38
6. Precisión intralaboratorial en la medición de IgE total, nivel I, según metodologías.....	42
7. Veracidad intralaboratorial en la medición de IgE total, nivel I en ECLIA.....	43
8. SDI interlaboratorial de los ratios de IgE total, nivel I, por metodología.....	45
9. Precisión intralaboratorial en la medición de IgE total, nivel II, por metodologías.....	49
10. Veracidad intralaboratorial en la medición de IgE total, nivel II, para ECLIA.....	50

11. SDI interlaboratorial de los ratios de IgE total, nivel II, por metodología.	52
12. Nivel I – ECLIA: Resultados respecto al valor de referencia del suero de Nivel I. (Media \pm 3 DS).....	78
13. Nivel I – RATIO: Resultados valorados como RATIO respecto al valor de referencia del suero de Nivel I(Media \pm 3 DS).....	78
14. Nivel II – ECLIA: Resultados respecto al valor de referencia del suero de Nivel II (Media \pm 3 DS).....	79
15. Nivel II – RATIO: Resultados en RATIO respecto al valor teórico del suero de Nivel II(Media \pm 3 DS).....	79

RESUMEN

Objetivo: Determinar la calidad intra e interlaboratorial en la determinación de Ig E total en laboratorios de análisis clínicos de Lima – Metropolitana. **Diseño:**

Descriptivo. **Lugar:** Laboratorios de análisis clínicos nacionales y privados de Lima

– Metropolitana. **Materiales y métodos:** Se extrajo dos muestras séricas de

donantes voluntarios. Fueron alícuotadas y congeladas (-32 °C). Previo

consentimiento informado, para el caso de laboratorios nacionales, se recolectó

información del proceso de medición de Ig E total en una encuesta. Se entregaron

dos alícuotas de la misma concentración a cada laboratorio, incluyendo a un

laboratorio de referencia, siendo transportados en cadena de frío. Los resultados

fueron informados de forma escrita y vía correo electrónico; y fueron analizados

para obtener el coeficiente de variación (CV%), Error relativo (E%) y el índice de

desviación estándar (SDI). **Resultados:** No hubo fluctuaciones significativas en la

concentración de Ig E total según el tiempo de almacenamiento en congelación. El

mayor CV% fue obtenido de la medición por ELISA y el menor, por ECLIA en las

determinaciones de Ig E total en ambos sueros de estudio. El máximo valor de

error relativo, para la medición de suero de nivel I, por ECLIA fue -15,131%, siendo

el mínimo -2,36%; así como para nivel II, el máximo valor fue -11,180% y el

mínimo, -1.848 % respecto a los valores obtenidos por el Laboratorio de

referencia. El mayor SDI, formulados a partir de valores RATIO, fue obtenido por

ELISA y el menor, por CLIA a partir de la medición de suero de nivel I, respecto al

laboratorio de referencia. En la medición del suero de nivel II, el mayor SDI se

obtuvo por ELISA y el menor, por ECLIA respecto al laboratorio de referencia.

Conclusiones: La metodología ECLIA es la más precisa siendo ELISA la más

imprecisa; sin embargo, la mayoría de laboratorios miden Ig E total por defecto

respecto a los valores informados por el laboratorio de referencia.

Palabras clave: Laboratorio de referencia, Coeficiente de variación, error relativo, SDI.

ABSTRACT

Objective: To determine the intra e interlaboratory quality of clinical laboratories in Lima in the determination of total Ig E. **Design:** Descriptive. Location: Clinical laboratories in Lima. **Materials and methods:** Serum samples were extracted from volunteer donors. Samples were split and frozen (-32°C). Prior informed consent, in the case of national laboratories, data about the process to determine total Ig E were collected in survey. Two similar concentration samples were given to each laboratory, as a reference laboratory, being sent in 4-6°C cold chain. The results were given as a document and via email; and were analysed to get the coefficient of variation (CV%), relative error (E%) and standard deviation index (SDI). **Results:** There is no significant variation in the total Ig E concentration according to the storage time. The highest CV% was obtained from the measurement by ELISA and the lowest, by ECLIA in determinations from both investigated serum of total Ig E. The highest relative error, respect sample of level I, from the measurement by ECLIA was -15,131%, and the lowest was -2,36%; as well as, in the measurement of sample of level II the highest relative error was -11,180% and the lowest was -1.848 % , respect to the measurements obtained by the reference laboratory. The highest SDI, formulated from Ratio values, was obtained by ELISA and the lowest, by CLIA from the measurement of level I of the serum, respect the reference laboratory. In the measurement of level II of the serum, the highest SDI was obtained by ELISA and the lowest, by ECLIA respect the reference laboratory. **Conclusions:** The ECLIA method showed the highest accuracy level while the ELISA method showed the lowest; however, the majority of laboratories measure default total Ig E compared with the reference laboratory.

Key words: Reference laboratory, coefficient of variation, relative error, SDI.

I. INTRODUCCIÓN

I. INTRODUCCIÓN

En el campo del laboratorio clínico, existen numerosas pruebas que son calificadas como instrumentos valiosos, tanto en investigación epidemiológica de poblaciones como en diagnóstico médico ¹, debido a que las decisiones del diagnóstico, pronóstico y tratamiento se basan con frecuencia en los resultados y las interpretaciones de las pruebas de laboratorio, por lo que es posible que se pueda causar un daño irreversible por resultados erróneos². Asimismo, en los últimos años, se han producido avances en los instrumentos de medición, se han mejorado la sensibilidad y especificidad de los ensayos, pero todavía se observa variabilidad método a método y susceptibilidad a las interferencias³.

También se conoce que la comparabilidad de los resultados entre laboratorios se ve afectada cuando, además de la variabilidad propia de cada individuo, se suman las diferentes metodologías analíticas: se usan reactivos diferentes, los equipos no son los mismos ni tienen el mismo mantenimiento preventivo ni los procedimientos se han estandarizado¹; y justamente son los programas de evaluación externa los que permiten comparar el nivel de calidad analítica de los distintos métodos, ya que en todo proceso de medición existen limitaciones dadas por los instrumentos usados, el método de medición y el observador (u observadores) que realizan la medición³.

Uno de los objetivos fundamentales del control de la calidad en un laboratorio clínico es lograr consistencia en los resultados, es decir, lograr que la medición reiterada de la variable de interés produzca casi siempre el mismo resultado cuando se analiza la misma muestra o paciente, y se supone que el verdadero valor de la variable en esa muestra o paciente no cambia durante el período de tiempo que dura la realización de esta serie de mediciones. Además, resulta necesario o al menos conveniente que como promedio el resultado que consistentemente se obtenga sea o se acerque suficientemente al valor verdadero. Por supuesto, nos estamos refiriendo a los clásicos conceptos de precisión y exactitud o veracidad de nuestras mediciones, respectivamente⁴; que a

su vez definen conceptos involucrados en el aseguramiento de la calidad de un laboratorio clínico¹.

Por ello, el presente estudio busca evaluar la calidad intra e interlaboratorial a través la valoración de la precisión y veracidad que existe en la determinación de Inmunoglobulina E total en laboratorios de análisis clínicos de Lima Metropolitana.

II. ANTECEDENTES

II. ANTECEDENTES

La variabilidad interlaboratorial ha sido muy estudiada en los últimos años debido al gran impacto que han tenido los numerosos sistemas de gestión de la calidad y las normas aplicadas por organismos reguladores. Sin embargo, los estudios realizados han sido enfocados en algunas áreas del laboratorio clínico más que en otras.

En el año 1989 se publicó un estudio en la Revista Costarricense de Ciencias Médicas, denominado “Variabilidad interlaboratorio en química clínica en un grupo de laboratorios clínicos costarricenses” realizado entre febrero de 1988 y setiembre de 1989, donde se realizaron 12 encuestas de evaluación externa de calidad en Química Clínica. El estudio incluyó a 30 laboratorios costarricenses y se utilizó como material para control suero liofilizado. Los datos fueron procesados mediante el programa estadístico SAS (Statistical Analysis System). El valor considerado verdadero para cada parámetro fue el promedio recalculado después de eliminar valores fuera del intervalo promedio ± 3 desviaciones estándar. Basándose en 10 encuestas, los coeficientes de variación promedio interlaboratorio fueron: Glucosa 12,4; Ácido úrico 15,4; Nitrógeno ureico 15,7; Creatinina 15,5; Proteínas totales 8,7; Albúmina 12,9; Colesterol 18,0; Triglicéridos 36,3; Calcio 16,8; Fosfato 23,5; Bilirrubina total 48,8; Sodio 6,7; Potasio 10,4; Cloruro 9,6; Deshidrogenasa láctica 33,5; Amilasa 35,7; Fosfatasa alcalina 34,5; Aspartato amino-transferasa 53,5 y Alanina amina transferasa 59,3. Estos resultados indicaron que la variabilidad interlaboratorio es demasiado alta, y es urgente establecer un programa nacional que promueve la estandarización de los resultados de laboratorio⁷.

En el año 1998, en la Revista Costarricense de Ciencias Médicas se publicó un estudio titulado “Resultados de un programa de estandarización interlaboratorios y evaluación externa de la calidad para el perfil lipídico en Costa Rica”, el cual

consistió en evaluación de la variabilidad interlaboratorio de los parámetros séricos involucrados en el perfil lipídico: colesterol total, triglicéridos y colesterol-HDL, a un grupo de 32 laboratorios en el área metropolitana en Costa Rica; teniendo como referencia un estudio realizado en 1989 sobre variabilidad interlaboratorios para análisis rutinarios en Química Clínica en Costa Rica, demostraron una variabilidad interlaboratorios muy alta tanto para la determinación de colesterol total así como de triglicéridos con coeficientes de variación (CV) de 18 y 36,3 % respectivamente. Obviamente esta alta variabilidad afecta el adecuado - diagnóstico y seguimiento de pacientes con niveles riesgosos de colesterol y triglicéridos.

Para este nuevo estudio se prepararon materiales control de suero humano y se distribuyeron durante cinco encuestas realizadas entre marzo de 1995 y abril de 1996. En las primeras cuatro encuestas se utilizó sueros congelados y en la quinta encuesta suero liofilizado. Además, cabe mencionar, que los valores de referencia para colesterol total, triglicéridos, y colesterol-HDL fueron establecidos por el Laboratorio de Metabolismo de Lípidos de la Universidad de Tufts en Boston. El colesterol total fue medido por una modificación del método de referencia Abell-Kendall; los triglicéridos y el colesterol-HDL fueron medidos por métodos estandarizados de acuerdo con los protocolos del Lipid Reserch Clinics.

Los coeficientes de variación promedio observados para cada parámetro evaluado y su ámbito fueron 7,2% (5,5-8,5%) para colesterol, 11,2% (9,7-12,1%) para triglicéridos y 20% (14,9-25,0%) para colesterol-HDL. La variación máxima (error total) permitida para considerar el desempeño adecuado fue igual o menos de 9% para colesterol total, 15% para triglicéridos y 22% para colesterol-HDL. El porcentaje de laboratorios participantes que cumplieron con este criterio fue en promedio de 68,4%, 69,3% y 70,6% para cada parámetro respectivamente. Ello revela que aproximadamente el 30% de los laboratorios participantes requieren mejorar su desempeño analítico en los parámetros séricos del perfil lipídico¹⁰.

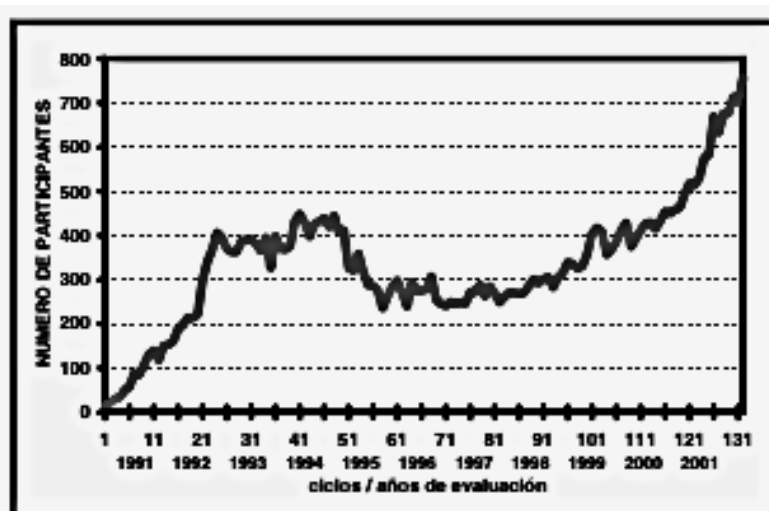
De la misma manera, la publicación “Programa de evaluación de la calidad entre laboratorios. XXVII. Resumen de once años de evaluación en química clínica” publicada el 2001 en la Revista LABORAT relata que en México, luego de que se publicó la Norma Oficial Mexicana NOM-166-SSA1-1997, en 1999, que hace obligatorio el control de calidad, el Programa de Evaluación de la Calidad entre Laboratorios, en 1990 ha crecido rápidamente. Actualmente es el más grande e incluye 900 participantes de todo México.

Así pues, en este estudio analizaron los resultados de 11 años, en los que se han realizado evaluaciones mensuales ininterrumpidas, en la sección de química clínica.

Un ciclo de evaluación incluye la distribución de una muestra problema a cada participante; el análisis de la misma conforme a los métodos e instrumentos utilizados por los laboratorios, incluyendo 22 componentes o los que cada laboratorio realice; el informe de resultados a los organizadores; el análisis estadístico comparativo y el informe correspondiente a los usuarios. Todas las muestras utilizadas han sido liofilizadas y comerciales.

El sistema de evaluación ya ha sido descrito previamente en otros estudios y se ha mantenido sin cambios. Se obtiene la Puntuación del Índice de Varianza (PIV), cuyos valores son: idealmente de “0”, con un límite aceptable de 100 y un valor máximo de 400 puntos. A medida que el valor sea mayor de 100 la calidad será más inaceptable.

De los resultados se apreció, como en la gráfica 1, el crecimiento del programa. Inició con apenas 18 laboratorios; llegando a 200 al año, a los dos años ya se tenían 500, cifra que se mantuvo hasta por 2 años, hasta que los problemas económicos del país en 1994, provocaron una disminución. Sin embargo, en el último año, esta cifra ha aumentado significativamente.



Gráfica 1. Laboratorios participantes en cada ciclo del PECEL.

En las gráficas de los diferentes componentes puede observarse que el promedio del PIV tiene una clara tendencia a disminuir en la mayoría de las pruebas, siendo más evidente en algunos como colesterol, triglicéridos, AML, ALT, AST, LDH y ALP. Otros han presentado un promedio que sugiere buena calidad desde un inicio, con una ligera tendencia a la disminución, como la glucosa, albúmina, cloruros, potasio y la hemoglobina.

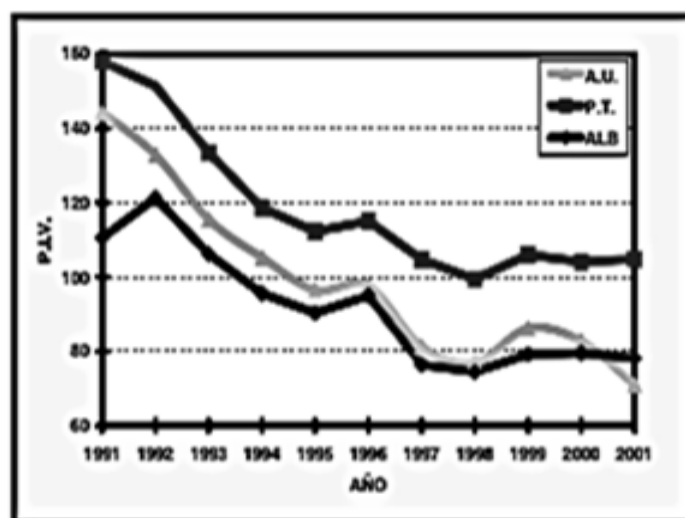


Gráfico 2. Evolución del PIV y la calidad de diferentes componentes. ¹²

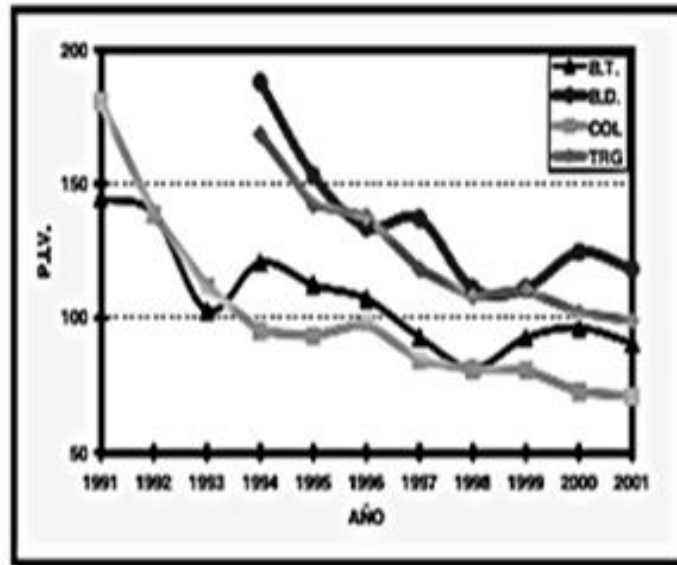


Gráfico 3. Evolución del PIV y la calidad de diferentes componentes.¹²

Cabe mencionar que entre las acciones que más han contribuido a mejorar la calidad de los diferentes componentes, destaca la adopción de métodos más específicos, como los enzimáticos para glucosa, urea, ácido úrico, colesterol y triglicéridos. Los métodos optimizados para las enzimas, además del abandono de los métodos que pueden ser calificados como obsoletos. Por tanto, los resultados de 11 años, muestran una mejoría de la calidad analítica en muchas pruebas, siendo más evidente en colesterol, triglicéridos, AML, ALT, AST, y LDH. Otras siempre han presentado buena calidad y han tenido una mejoría ligera, como glucosa, cloruros, potasio y hemoglobina¹².

En el 2003 se publicó en la Revista de Calidad Asistencial un estudio titulado “Variabilidad intra e interlaboratorios en la determinación de la glucosa plasmática. Implicaciones para los estudios epidemiológicos y la práctica clínica” donde se evaluó la exactitud y la precisión intra e interlaboratorios de las determinaciones de glucemia en cinco laboratorios hospitalarios de la red pública de Cataluña, teniendo en cuenta que la precisión de las determinaciones de glucemia es esencial para el correcto diagnóstico de la diabetes, y la variabilidad intra e

interlaboratorios podría tener implicaciones relevantes desde el punto de vista clínico y epidemiológico.

Cada laboratorio analizó 20 diluciones duplicadas (40 muestras) de suero control líquido valorado, ciego a las titulaciones, a la existencia de muestras duplicadas y manteniendo las condiciones usuales de práctica. Se analizó la existencia de diferencias entre laboratorios y con los valores de referencia, entre muestras duplicadas del mismo laboratorio y las diferencias en el porcentaje de titulaciones que serían clasificadas en las diferentes categorías diagnósticas de diabetes. Los resultados indicaron que la concordancia de categorías diagnósticas entre los hospitales y las titulaciones valoradas fue muy elevada (estadísticos $> 0,80$). Los valores medios de cada lote fueron muy próximos entre sí y muy próximos a los de la titulación original estimada, con variaciones, entre 1 y 3 mg/dl, carentes de relevancia clínica. Tampoco existieron diferencias relevantes en el análisis intralaboratorio de las muestras duplicadas. El porcentaje de muestras de cada hospital en las diferentes categorías diagnósticas no demostró diferencias significativas.

Finalmente, se concluyó que la excelente exactitud y la precisión en la determinación de glucemia en los laboratorios de los centros analizados permiten las comparaciones en los estudios epidemiológicos y reasegura a los clínicos en la calidad y exactitud de los datos ofrecidos por estos laboratorios⁸.

Además, en un estudio titulado “Programa de Evaluación Externa de Calidad: Comparación metodológica para T4 libre” publicado en el año 2006, el PEEC de la Fundación Bioquímica Argentina (FBA) realizó tres encuestas con la participación de aproximadamente 250 laboratorios de todo el país. Se distribuyeron entre los participantes tres lotes de suero comercial liofilizado (BIO-RAD) con diferentes concentraciones de T4L (hg/dL), y se calcularon para cada lote, el promedio de consenso (mC), y su Desviación Estándar consenso (DEC), de todos los participantes (n): Lote 1, $n_1=386$, $mC_1 \pm DEC_1 = 0,6 \pm 0,2$; lote 2, $n_2=604$, $mC_2 \pm$

DEC2 = $1,2 \pm 0,3$; lote 3, $n_3=301$, $mC_3 \pm DEC_3 = 3,2 \pm 0,8$. Los resultados permitieron evaluar y comparar nueve equipos comerciales: Coat-A-Count e IMMULITE de DiagnosticProductsCorporation®; IMX y AXSYM de ABBOTT®; ELFA de Bio-Merieux®; ELECSYS-1010 y 2010 de ROCHE®; ACS-180 de BAYER® y ACCESS de BECKMAN®. En dicho estudio se evaluó:

- 1) Coeficiente de Variación interlaboratorial (CVK) de cada grupo de laboratorios que utiliza la misma marca comercial.
- 2) Desvío Relativo Porcentual de todos (DRPt): grado de alejamiento del valor informado por el laboratorio respecto a la mC.
- 3) Desvío Relativo Porcentual de cada grupo de laboratorios que utiliza la misma marca comercial (DRPr): grado de alejamiento del valor informado respecto a la m de cada grupo comercial. El PEEC considera aceptable $DRP \leq 9,9\%$. Del estudio, se concluyó que el porcentaje de laboratorios que se acumulan antes de alcanzar la cota de aceptabilidad es de 61,6%. Además se menciona que el orden creciente de aceptabilidad fue: 81,6% ELECSYS 2010; 70,8% ELECSYS 1010; 66,7% ACCESS; 64,9% IMX; 61,3% ELFA; 60,0% AXSYM; 57,1% ACS 180; 55,4% IMMULITE y 36,6% Coat-A-Count de DPC. Cuanto mayor sea dicho porcentaje, mayor cantidad de participantes habrá hecho la evaluación analítica en condiciones de aceptabilidad de reconocimiento internacional¹¹.

En el estudio titulado “Comparación de los resultados de pruebas de laboratorio seleccionadas de un estudio poblacional de adultos mayores de Costa Rica” publicado en el 2007, se valoraron las diferencias en la medición entre laboratorio de siete biomarcadores de una población de adultos mayores en Costa Rica, denominado CRELES. Se usan los datos de ensayos replicados en varios laboratorios para la misma muestra biológica. Los resultados indican una alta estabilidad (medida por el coeficiente de correlación) para casi todas las pruebas, sin embargo se observaron diferencias significativas en los promedios entre laboratorios, es decir existían sesgos en la medición de los biomarcadores, especialmente grandes para creatinina y hemoglobina glicosilada. Las diferencias

observadas entre los distintos laboratorios refuerzan el concepto de la variabilidad dependiente tanto del analito como del paciente y del método de análisis. Dadas las diferencias encontradas se definieron ecuaciones para ajustar los datos emitidos por dos laboratorios con el fin de que sean comparables con un tercer laboratorio usado como referencia. Las dicotomías en riesgo o no derivadas de los resultados de laboratorio luego del ajuste, no presentan diferencias entre laboratorios⁹.

III. IMPORTANCIA

III. IMPORTANCIA

La prevalencia de las enfermedades alérgicas en todo el mundo, incluyendo el Perú, aumenta a cada año, a pesar de las medidas de control y tratamiento integral instituidas en los últimos años. En algunos países, uno de cada cuatro individuos tiene asma u otra enfermedad alérgica. Los costos directos e indirectos del tratamiento de enfermedades alérgicas tanto para el sistema de salud privado como para el sistema público son muy altos y generan una preocupación global hacia la búsqueda de métodos de diagnóstico precoz y de prevención, que permitan acciones que minimicen la generación de discapacidades¹⁴.

Así mismo, se conoce que la defensa contra muchas infecciones por helmintos depende de la activación de linfocitos Th2, que favorece la síntesis de anticuerpos Ig E y la activación de los eosinófilos. Los anticuerpos Ig E que se unen a la superficie de los helmintos pueden activar a los mastocitos, y los anticuerpos Ig G e Ig A aproximan los eosinófilos a los helmintos y activan los eosinófilos para que liberen el contenido de sus gránulos. Todo ello desembocará en la expulsión y destrucción de los parásitos. En las infecciones por helmintos es frecuente observar una producción de anticuerpos Ig E específicos y eosinofilia²², hecho que colabora con un adecuado diagnóstico en pacientes con este tipo de infecciones.

De la misma forma, para enfermedades como el asma, la rinitis alérgica, la conjuntivitis alérgica, la dermatitis atópica, la dermatitis de contacto alérgica, la urticaria y las alergias alimentarias, hay varios métodos que pueden ser empleados con fines diagnósticos. Son métodos con especificidad y sensibilidad reconocidas; la seguridad de éstos está directamente relacionada con la habilidad técnica profesional, la calidad del material utilizado, el que debe ser estandarizado, y la correcta interpretación de los resultados¹⁴.

Además se considera que los niveles de IgE que están significativamente aumentados respecto a sus rangos referentes correctamente establecidos se asocian estrechamente con enfermedades atópicas como la dermatitis atópica, el

asma extrínseco y la rinitis alérgica. Los aumentos extremos de la IgE sérica se observan normalmente en parasitosis y son necesarios para el diagnóstico de síndrome hiper-IgE. Los niveles disminuidos pueden apoyar el diagnóstico de asma intrínseco (no alérgico) y pueden ayudar a excluir la aspergilosis broncopulmonar alérgica¹⁵.

IV. OBJETIVOS

IV. OBJETIVOS

IV.1. Objetivo general:

- Determinar la calidad intra e interlaboratorial en la determinación de Inmunoglobulina E total en laboratorios de análisis clínicos de Lima.

IV.2. Objetivos específicos:

- Analizar la precisión de laboratorios de análisis clínicos de Lima en la determinación de Inmunoglobulina E total, según la metodología del analizador.
- Analizar la veracidad de laboratorios de análisis clínicos de Lima en la determinación de Inmunoglobulina E total, según la metodología del analizador.

IV.3. FINALIDAD

En el presente estudio se evaluó el control de calidad en la determinación de Inmunoglobulina E total, con el fin estimar la precisión y exactitud, en laboratorios de análisis clínicos ubicados en la ciudad de Lima, debido a que el análisis del nivel sérico de este analito ha sido adoptado como un buen recurso, junto a otras pruebas, para monitorear enfermedades alérgicas en pacientes atópicos y no atópicos, las cuales vienen siendo catalogadas como emergentes y tema de importancia en Salud Pública.

V. BASE TEÓRICA

V. BASE TEÓRICA

V.1. Generalidades

La Inmunoglobulina E es un tipo de anticuerpo implicado en procesos alérgicos (hipersensibilidad de tipo I o inmediata) como mediador de esta respuesta y en la respuesta inmune contra agentes parasitarios siendo los helmintos los más frecuentes.

El estímulo para su síntesis puede proceder de una gran variedad de antígenos, a los que en este caso se conocen como alérgenos, los cuales pueden penetrar en el organismo a través de la piel o de las mucosas respiratoria, ocular, del aparato digestivo, etc.; así como por inyectables, como es el caso de la penicilina u otros medicamentos.

La vida media de la Ig E en sangre periférica es de 24-48 horas. No tiene capacidad de atravesar la placenta. Sin embargo, puede existir una predisposición de tipo familiar a padecer enfermedades de naturaleza alérgica, a lo que en muchos casos denominan pacientes atópicos¹⁴.

TABLA I ³³ Valores de Ig E total según la edad			
Edad	Ig E (KU/l)	+1DE	+2DE
Cordón	0.3		
6 semanas	0.7	2.1	6.1
6 meses	2.7	6.6	16.3
9 meses	2.4	4.2	7.3
1 año	7	21	58
2 años	11	26	61
3 años	11	21	40
4 años	20	37	70
7 años	26	75	221
10 años	39	115	337
14 años	32	78	187

También la Ig E se encuentra en forma libre en sangre en donde se observa que los niveles cambian a lo largo de la edad¹³. Sus niveles en cordón umbilical son bajos (< 2 UI/ml) dado que no cruza la barrera placentaria, a diferencia del caso de niños, donde se observa el aumento progresivo hasta los 10-15 años¹⁵.

Los niños atópicos tienen un aumento más precoz y rápido en los niveles de Ig E en la infancia precoz en comparación con los niños no atópicos. Los niveles decaen entre la segunda y octava década de vida. Por ello, los niveles de Ig E sérica de un paciente deben compararse siempre con los intervalos de referencia de una población estratificada por edad, sana y no atópica¹⁵.

La Ig E también se encuentra en otros líquidos biológicos, así como unida a basófilos y células cebadas, gracias a la propiedad que tiene esta inmunoglobulina de unirse por su extremo Fc a receptores de superficie presentes en dichas células, caracterizadas por encontrarse en la piel y mucosas y por contener abundantes gránulos citoplasmáticos, ricos en sustancias vasoactivas liberadas al ser activadas¹⁴.

V.2. Muestras biológicas

V.2. 1. Tipo de muestra

El suero y plasma se consideran las muestras de trabajo empleadas rutinariamente en la detección de Ig E total. La presencia de anticoagulantes para obtener plasma puede interferir en la cuantificación exacta de los niveles sanguíneos de Ig E total. Las muestras con presencia de hemólisis, ictericia o lipémicas a simple vista no deberían emplearse para el estudio de Ig E debido a posibles interferencias en su determinación¹⁵.

V.2.2. Condiciones de almacenamiento

Las muestras transportadas en contenedores *polyspan* pueden mantenerse a temperatura ambiente hasta una semana sin degradarse la Ig E; sin embargo, se recomienda que el espécimen separado permanezca a

temperatura ambiente menos de 8 horas (tiempo de trabajo habitual en un laboratorio asistencial).

Si el ensayo no se puede realizar en ese tiempo, se recomienda que la muestra de suero o plasma se mantenga refrigerada a 4°C si el estudio se realiza en los siguientes 2-3 días, o congelado a -20°C si se posterga el análisis aun más¹⁵.

Dicha información ha sido evaluada y demostrada en numerosos estudios desde hace décadas. Un ejemplo de ello es el estudio titulado “Standardization and stability of Immunoglobulin E (Ig E)” publicado en el año 1972, cuya descripción mencionaba que la Ig E es relativamente estable bajo varias condiciones de almacenamiento y procesamiento aludiendo al estándar de Ig E obtenida por la OMS a partir de un mieloma Ig E purificado³¹.

Incluso un estudio demostró hace varias décadas que los sueros obtenidos de conejos y ratones, los cuales contenían anticuerpos de tipo Ig E no perdían su capacidad de sensibilidad siendo almacenados a -20°C por dos años o en caso de ser liofilizados³².

Otras bibliografías afirman que almacenarlas entre -70°C a -20°C por años (5- 30 años) no disminuye la capacidad de poder dosar los mismos niveles de IgE total en el espécimen almacenado³³.

V. 3. Metodologías para determinación de niveles Ig E sérica total

Dentro del ámbito clínico, se conoce que el diagnóstico correcto de las enfermedades alérgicas requiere la combinación de una historia clínica completa con el examen físico y el uso de ensayos in vitro e in vivo para la detección de Ig E frente a especificidades alergénicas en los tejidos o suero.

Las pruebas in vivo, así como las reacciones cutáneas -sean de lectura inmediata o tardía- o las pruebas de provocación, que son fundamentales para confirmar el diagnóstico de enfermedad alérgica sugerido por la historia clínica¹⁴. Sin embargo, son muy variables por el uso de distintas técnicas y métodos de cuantificación e interpretación. Además, no debe olvidarse que las pruebas in vivo nunca están exentas de riesgo de reacciones adversas y, sobre todo en los niños, pueden no tolerarse; siendo esta la principal razón por la que los ensayos serológicos empleados para cuantificar Ig E específica frente a alérgenos se han convertido en una herramienta esencial en los algoritmos diagnósticos equivalente a las pruebas in vivo, pero sin riesgo para el paciente¹⁵.

Los laboratorios de diagnóstico de alergia han empleado durante más de 30 años ensayos comerciales para medir tanto Ig E total como Ig E específica; por ello la automatización y estandarización interlaboratorio han marcado un gran avance gracias al empleo de métodos de calibración referidos a un estándar internacional de referencia para la Ig E total.

La determinación de Ig E sérica total, a lo largo de los últimos 20 años, ha sido efectuada bajo diferentes metodologías:

- A) Inmunodifusión radial
- B) Nefelometría
- C) Inmunoensayo (EIA, FIA, RIA, CLIA y ECLIA)

En 1990, los autores de un estudio dirigido a las limitaciones de las pruebas de Inmunología mencionan que la Inmunodifusión radial y la nefelometría eran los métodos que más se utilizaban para la determinación de diferentes clases de inmunoglobulinas. Incluso refieren un estudio realizado por el Colegio de Patólogos americanos de 1978 a 1984, donde participaron más de 1000 laboratorios, y se reportó un coeficiente de variación mayor en la determinación de inmunoglobulinas por el método de Inmunodifusión radial que por Nefelometría¹⁶.

Se conoce que la RID (inmunodifusión radial) es un método históricamente utilizado para cuantificar las concentraciones de inmunoglobulinas que fue basado en el principio de que el antígeno y el anticuerpo forman inmunocomplejos cuando difunden en un gel de agarosa. Estos complejos se hacían visibles cuando al precipitar forman un anillo. Técnicas más avanzadas, como el ELISA, han reemplazado a la RID²⁰.

Ahora bien, el método de ELISA, que con mucha frecuencia se utiliza para analizar inmunoglobulinas, es una técnica muy versátil, sensible y cuantitativa que exige poco instrumental y para la que existen multitud de reactivos en el mercado.

Actualmente muchos laboratorios de diagnóstico utilizan un sistema nefelométrico automatizado para analizar las inmunoglobulinas. Si bien los costes del instrumental son más elevados que los de los métodos de ELISA, los análisis nefelométricos son rápidos y fáciles de llevar a cabo.²⁰

La cuantificación de IgE total no es esencial en ninguna condición clínica a excepción del síndrome Hiper-IgE. Sin embargo, aportan cierta utilidad en el diagnóstico diferencial en los padecimientos atópicos, asma intrínseca, aspergilosis broncopulmonar, parasitismo y eosinofilia¹⁷. Se ha reportado que la determinación de IgE total en sangre de cordón umbilical de recién nacidos con antecedentes familiares de atopía es un indicador del riesgo de padecer enfermedades alérgicas¹⁸. Los métodos que se recomiendan para la evaluación de la IgE total o específica, son el radioinmunoanálisis y en inmunoensayo enzimático (ELISA)¹⁹.

- i. Método manual: Inmunodifusión Radial (RID)
- ii. Método semiautomatizado: Nefelometría
- iii. Método automatizado

A finales de la década de los 60 aparecieron los primeros métodos inmunológicos de determinación de inmunoglobulina E en suero, la radioinmunoanálisis (RIA) tipo sándwich, que tenían el inconveniente de la utilización de isótopos radiactivos, lo cual llevó a la búsqueda de técnicas alternativas. De este modo, aparecieron los enzimoimmunoanálisis (EIA) y los immunoanálisis fluorescentes y quimioluminiscentes. Además otros métodos, como Inmunodifusión radial, “Immunobinding”, Inmunonefelometría e Immunoanálisis basados en la utilización de látex, suponen una alternativa a los previamente descritos²¹.

V.3.1. EIA (Enzimoimmunoensayo)

Ensayo in vitro donde uno de los inmunoreactivos (Antígeno o Anticuerpo) se encuentra vinculado a una enzima por un enlace covalente, y que puede cuantificarse por un espectrofotómetro mediante la determinación de la velocidad con la que esta enzima transforma una sustancia transparente en un producto coloreado²².

V. 3.2. RIA(Radioimmunoensayo)

Ensayo in vitro donde esta uno de los inmunoreactivos (Antígeno o anticuerpo) se encuentra marcada con un radioisótopo, y su presencia puede ser cuantificada por medio de instrumentos que detecten los fenómenos de desintegración radiactiva²².

V.3.3. FIA (Fluoroimmunoensayo)

Prueba in vitro donde uno de los inmunoreactivos se encuentra fijado a la fase sólida y el segundo se une covalentemente a una molécula fluorescente¹³, quien evidenciará la reacción Antígeno-Anticuerpo.

V.3.4. CLIA (Inmunoensayo quimioluminiscente ó Enzimo-quimioinmuno-análisis)

Metodología que se caracteriza por la emisión de luz visible debido a una reacción química producida por la oxidación del éster de acridina empleado como marca, una de las diferentes sustancias involucradas, el cual variará según el sistema automatizado utilizado. Esta reacción química se llevará a cabo en partículas paramagnéticas que ofrecen una máxima superficie de contacto (100 veces más que los métodos convencionales) y una rápida separación magnética, con una mínima unión inespecífica²⁵.

V.3.5. ECLIA (Electroquimioluminiscencia)

Ensayo in vitro en fase líquida donde la unión de un inmunoreactivo a la fase sólida se da a través de la elevada afinidad de la biotina por la estreptavidina fijada a micropartículas¹³. Dicho complejo será reconocido por su correspondiente previamente marcado con una especie electroquímicamente activa, como por ejemplo $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$, el cual al llegar a su estado excitado emitirá un fotón, regresando de esta manera a su estado basal, y por tanto siendo libre de ingresar nuevamente al ciclo antes mencionado.

V. 4. Analizadores para determinación de niveles de IgE sérica total

- A. Alpha centauros. Principio: Quimioluminiscencia.
- B. Cobas. Principio: Electroquimioluminiscencia.
- E. Modular E. Principio: Electroquimioluminiscencia.
- C. UniCAP (nmunoCAP). Principio: Fluoroenzimoinmunoensayo
- D. Immulite 2000. Principio: Quimioluminiscencia
- E. Architect i1000SR. Principio: Quimioluminiscencia.
- F. Maglumi 1000. Principio: Quimioluminiscencia.
- G. Minividas. Principio: ELFA

V.5. Calidad en el laboratorio clínico

La importancia de la Incertidumbre de una medición es que permite una estimación cuantitativa de la calidad del resultado de una prueba del laboratorio; por ello hace unos años algunos organismos internacionales desarrollaron un documento para estimar la incertidumbre bajo el título Guía para la Medición de la Incertidumbre (GUM) principalmente dedicado a magnitudes físicas y de laboratorios de ensayo. Posteriormente la norma ISO 15189 los adaptó a la problemática del laboratorio clínico debido a la compleja matriz del material biológico que se utiliza en los ensayos⁵.

Por otro lado, la Norma-15189 que se intitula «Manejo de Calidad en el Laboratorio Médico», que hace pocos años entró en vigor para la evaluación, mejora de la calidad y acreditación de los laboratorios clínicos, abarca todo el proceso analítico, desde la etapa pre hasta la post examen, dando importancia a la medición de la incertidumbre, la evaluación de la variabilidad biológica y analítica para poder demostrar la relevancia médica de los resultados⁶.

V.6. HIPÓTESIS

- La calidad intralaboratorial expresada como precisión de las mediciones, en el 95% a más de los laboratorios, corresponde al requisito de calidad CLIA para IgE ± 3 desviaciones estándar del valor dado por el laboratorio de referencia.
- La calidad intralaboratorial expresada como veracidad de las mediciones, en el 80% a más de los laboratorios, corresponde a un error relativo máximo de 5%.
- La calidad inter laboratorial expresada como SDI de las mediciones, en el 90% corresponde al intervalo de control(óptimo menor a 1,5 y aceptable entre 1,5 a 2).

VI. MÉTODOS

VI. MÉTODOS

VI.1. TIPO DE EN INVESTIGACIÓN:

Sin intervención.

VI.2. DISEÑO DEL ESTUDIO.

El presente estudio es descriptivo, transversal, observacional y prospectivo.

VI.3. POBLACIÓN

Laboratorios de análisis clínicos de Lima-Metropolitana: Entidades particulares y aquéllas que deseen participar voluntariamente.

VI.4. MUESTRA

VI.4.1. Marco Muestral

a) Criterios de inclusión

- Laboratorios participantes ubicados en la ciudad de Lima.
- Laboratorios de análisis clínicos activos en general
- Laboratorios que aceptaron participar voluntariamente
- Laboratorios que hayan llenado correctamente el consentimiento informado y formulario de datos (En caso de participación voluntaria).

b) Criterios de exclusión

- Laboratorios que remiten las muestras a otros laboratorios para análisis de Inmunoglobulina E total.
- Laboratorios que no envíen sus resultados completos (en caso de participación voluntaria).

VI.4.2. Tipo de muestreo

Muestreo por conveniencia de tipo incidental.

VI.4.3. Tamaño muestral

Fueron incluidos en total 21 establecimientos de análisis clínicos ubicados en Lima metropolitana.

VI.4.4. Unidad de análisis

La unidad de análisis para esta investigación se consideró al resultado de análisis de Ig E total de un laboratorio.

VI.5. VARIABLE

Calidad intra e interlaboratorial en la determinación de Inmunoglobulina E.

VI.6. INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Los perfiles de los laboratorios fueron recolectados a través del método de la encuesta la misma que se encuentra en el Anexo 1.

VI.7. PLAN DE PROCEDIMIENTOS

Se recolectaron las direcciones de laboratorios de análisis clínicos de Lima, donde las muestras tomadas para la determinación de Ig E total se lleve a cabo en sus instalaciones, es decir, que no sean remitidas a un tercero.

Se practicó el método de la venopunción a 2 donantes voluntarios: (donante A y donante B) con el fin de obtener suero fresco. Se alicuotó 0.5 mL de cada espécimen por criovial, obteniendo 20 crioviales del donante A y 26 crioviales del donante B. Los materiales involucrados en el procesamiento de alicuotado de suero fueron suministrados por la Facultad de Medicina (Ver Anexo 6).

Las alícuotas pasaron a ser almacenadas en condiciones de congelación (-32°C) hasta el día de su envío conservando la cadena de frío.

En este estudio se contó con el apoyo de un laboratorio afiliado al que denominamos “Laboratorio de Referencia”, debido a que se encuentra afiliado Programa de Control de Calidad Externo y que además, midió Ig E total de dos crioviales de la misma concentración, mediante la metodología Electroquimioluminiscencia (ECLIA), con el fin de estimar los valores verdaderos, de control o valores teóricos, de los sueros de los donantes y obtener los mismos indicadores que en el resto de entidades.

A partir de ello, se identificó a uno de los sueros como Nivel I, por presentar un nivel normal de concentración de Ig E total: 56.31 UI/mL; y al siguiente, como Nivel II, por presentar niveles fuera del rango de normalidad de Ig E total para el laboratorio de referencia: 273.25 UI/mL.

El día de la entrega del espécimen, los laboratorios participantes, entre entidades donde se solicitó el servicio particular de dosaje de Inmunoglobulina E y entidades voluntarias, recibieron dos crioviales cada uno los cuales contenían la misma muestra (procesamiento ciego).

Luego del procesamiento de ambas muestras, se recolectaron los resultados del procesamiento, así como algunos datos acerca de la metodología que habrían empleado. En este punto se observó que el proceso analítico se llevó a cabo bajo tres diferentes metodologías: Electroquimioluminiscencia (ECLIA), Quimioluminiscencia (CLIA) y ELISA (Anexo 2); por ello, para establecer la comparación de interés entre los participantes, se creó una subclasificación en cada nivel de concentración del suero de estudio: RATIO y SDI.

RATIO: Los resultados analíticos de cada participante fueron transformados a una RAZON o RATIO en una escala de 0 a 1, para valores normales, y fuera de este en caso de valores patológicos; debido a que los participantes

manejaban distintas metodologías y estas, a su vez, diferentes rango de referencia de normalidad.

SDI (Índice de Desviación Estándar): Indica a cuantas Desviaciones Estándar se encuentra alejado un valor individual, respecto a su media.

VI.8. ANÁLISIS DE DATOS

Los datos recogidos a partir de la ejecución del plan procedimental, fueron analizados por las herramientas y fórmulas estadísticas tales como la Desviación estándar (DS), Coeficiente de variación (CV%), Error total, Error relativo e Índice de Desviación estándar (SDI) y análisis de ratio

Desviación estándar (DS).- Se empleó para analizar los resultados emitidos por los participantes y sus valores en Ratio.

$$\sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}$$

Coeficiente de variación (CV%).- Se empleó para analizar los resultados emitidos por los participantes y sus valores en Ratio. Estos valores deberán ser menores del CV% del Laboratorio de Referencia y/o no exceder a 5%. Es un indicador de la calidad intralaboratorial.

$$[DS/\bar{X}] \times 100$$

Error total (ϵ).- Se empleó para analizar los resultados emitidos por los participantes y sus valores en Ratio.

$$\text{Error total } (\epsilon) = \text{Valor experimental} - \text{Valor teórico}$$

Error relativo (ε).-Se empleó para analizar los resultados emitidos por los participantes y sus valores en Ratio.

$$\text{Error relativo } (\epsilon) = \frac{\text{Valor experimental} - \text{Valor teórico}}{\text{Valor teórico}}$$

SDI (índice de desviación estándar).- Se empleó para analizar los resultados emitidos por los participantes y sus valores en Ratio. Se clasifican como óptimos aquellos valores ubicados en el rango ± 1.5 y como aceptables entre ± 1.5 a 2. Los valores por encima de ± 2 se califican como no aceptables o de baja calidad, para evaluar la calidad interlaboratorial de los resultados.

$$SDI = X_i - X_g / DS_g$$

RATIO.- Los resultados emitidos por los todos participantes (independientemente del tipo de metodología que emplearon) fueron transformados a un valor denominado RATIO debido a la diferencias entre los rangos de referencia de normalidad de cada una. Su estimación se fundamenta en el “Teorema de Thales de Mileto” (Anexo 3). A partir de este, ejecutamos un ejercicio de **transformación de escalas**: de los rangos de referencia de normalidad de cada metodología a una escala de 0 a 1 (para valores normales), común y proporcional para todas; con el fin de establecer la evaluación objetivo de este estudio.

VI.9 CONSIDERACIONES ÉTICAS

El presente estudio se realizó bajo las consideraciones éticas pertinentes que se requirieron para lograr los objetivos planteados, tal como la confidencialidad respecto a los nombres de los laboratorios participantes y

la aprobación de participación voluntaria de algunos laboratorios a través de la entrega de Consentimiento Informado (Anexo 4) correctamente rubricado.

VII. RESULTADOS

VII. RESULTADOS

Del estudio de la calidad intra e inter laboratorial en la determinación de Ig E total se han obtenido los siguientes resultados.

Tabla 2. Distribución de crioviales con suero de “Nivel I” y “Nivel II” respecto a su análisis bajo diferentes metodologías.

METODOLOGIA	CRIOVIALES		LABORATORIOS	
Nivel de concentración	NIVEL I	NIVEL II	NIVEL I	NIVEL II
ECLIA	10	10	5	5
QUIMIOLUMINISCENCIA	6	6	3	3
ELISA	8	2	4	1
SUBTOTAL	24	18	12	9
TOTAL	42		21	

Fuente: primaria

Se contó con un total de 21 laboratorios participantes, entre entidades privadas y nacionales. Cada uno sólo recibió dos de crioviales de la misma concentración, pero con distinto rótulo (procesamiento ciego), para evaluar el nivel de calidad intralaboratorial de cada uno de ellos. Se repartieron en total 42 crioviales, 24 del nivel I (nivel normal 56,31 UI/mL) y 18 del nivel II (valor anormal 273,25 UI/mL)

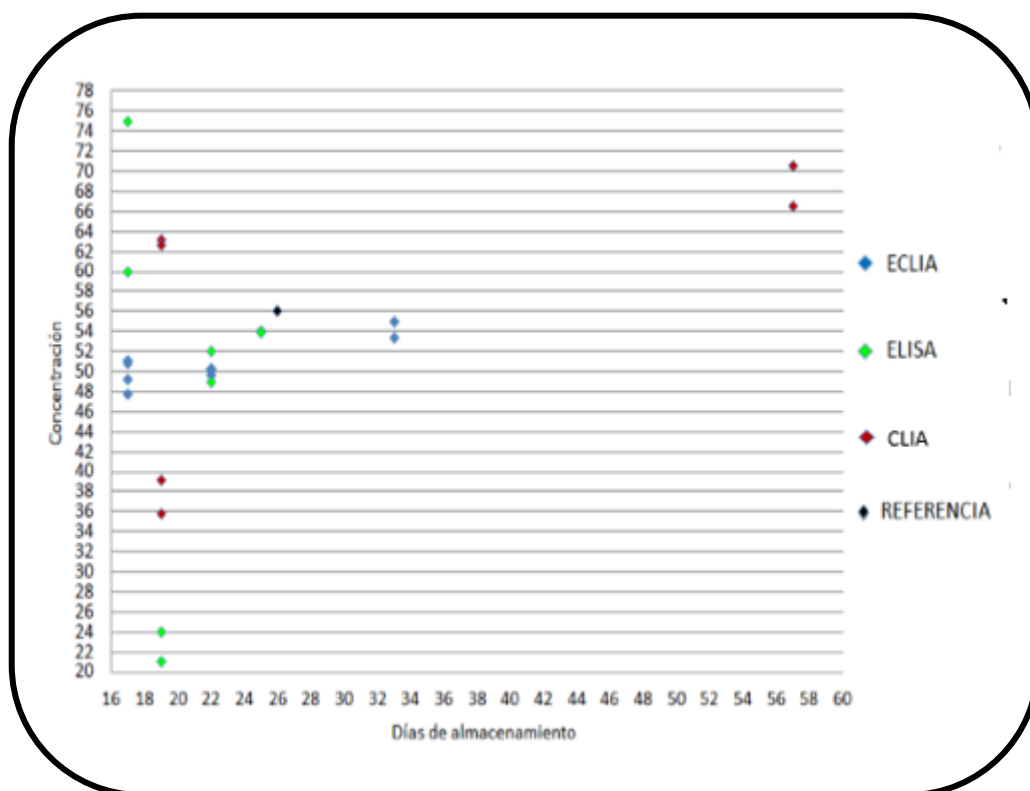
Tabla 3. Concentración de Ig E total, nivel I, según tiempo de almacenamiento.

N°	Laboratorio	Metodología	Resultado (UI/mL)	Tiempo de almacenamiento (días)
1	P14	ECLIA	47,79	17
			49,26	
2	P18	ELISA	60	17
			75	
3	P12	ECLIA	51,1	17
			50,8	
4	P15	ELISA	21	19
			24	
5	P20	CLIA	35,8	19
			39,1	
6	P19	CLIA	63,1	19
			62,6	
7	P16	ELISA	49	22
			52	
8	P10	ECLIA	50,1	22
			49,6	
9	P11	ECLIA	50,2	22
			50,34	
10	P17	ELISA	54,04	25
			53,84	
11	Referencia	ECLIA	56,06	26
			56,56	
12	P13	ECLIA	53,43	33
			54,98	
13	P21	CLIA	66,49	57
			70,60	

Fuente: primaria

Se observa que en los resultados del análisis de la muestra de estudio no hay tendencia de incremento o disminución de la concentración de Ig E, según el tiempo de almacenamiento de la muestras del nivel I, en ninguna de las metodologías usadas por los laboratorios. El valor r de Pearson (análisis de correlación) fue 0,42.

Gráfico 4. Concentración de Ig E total, nivel I, según tiempo de almacenamiento.



Fuente: primaria, Tabla N° 3

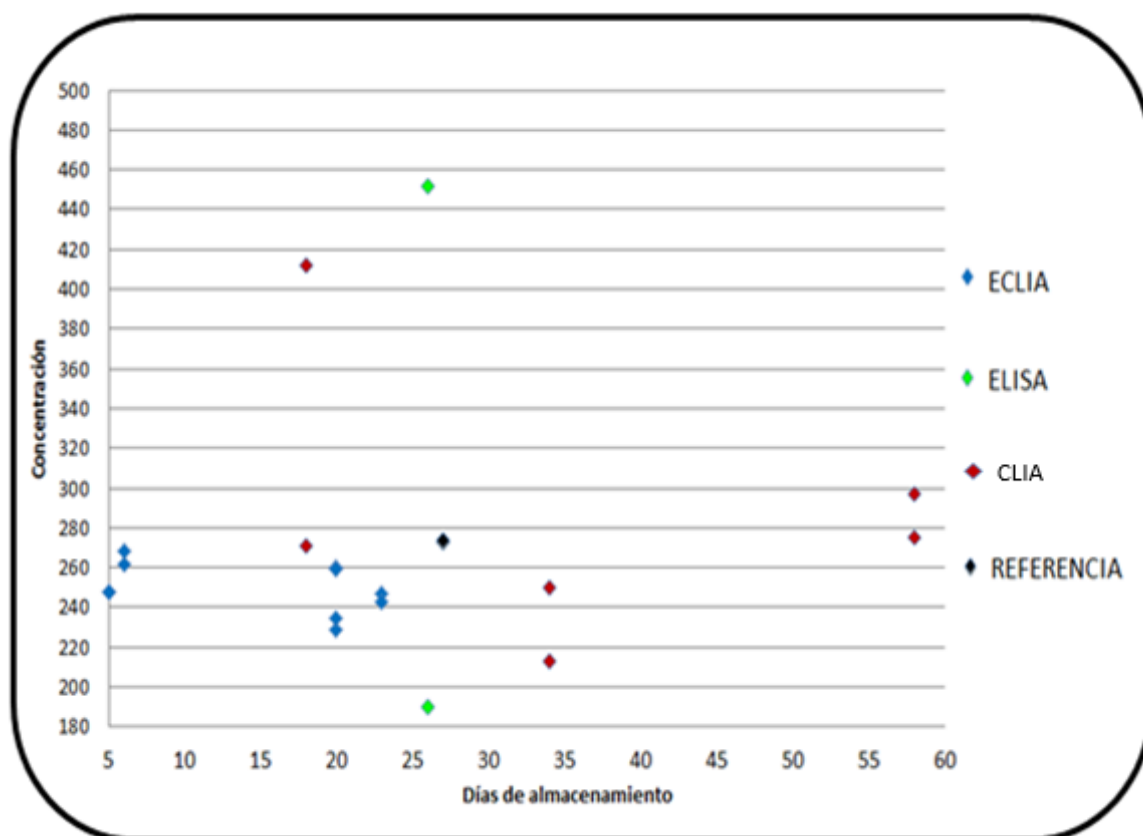
Tabla 4. Concentración de Ig E total, nivel II, según tiempo de almacenamiento.

N°	Laboratorio	Metodología	Resultado (UI/mL)	Tiempo de almacenamiento (días)
1	P5	ECLIA	247,5	5
			247,6	
2	P4	ECLIA	262	6
			268,2	
3	P9	CLIA	271	18
			412	
4	P1	ECLIA	228,6	20
			234,9	
5	P2	ECLIA	259,8	20
			259,4	
6	P3	ECLIA	247,2	23
			242,7	
7	P6	ELISA	190	26
			451,8	
8	Referencia	ECLIA	272,7	27
			273,8	
9	P7	CLIA	250	34
			213	
10	P8	CLIA	297,12	58
			275,23	

Fuente: primaria

Se observa que en los resultados del análisis de la muestra de estudio no hay tendencia de incremento o disminución de la concentración de Ig E, según el tiempo de almacenamiento de la muestra del nivel II, en ninguna de las metodologías usadas por los laboratorios. El valor r de Pearson (análisis de correlación) fue 0,06.

Gráfico 5. Concentración de Ig E total, nivel II, según tiempo de almacenamiento.



Fuente: primaria, Tabla N° 4

Tabla 5. Precisión y veracidad de la concentración de Ig E total, nivel I, para la metodología ECLIA.

N°	Laboratorio	Resultado (UI/mL)	CV (%)	Error (UI/mL)	Error (%)
1	P14	47,79	2,142	-8,520	-15,131
		49,26		-7,050	-12,520
2	P12	51,10	0,416	-5,210	-9,252
		50,80		-5,510	-9,785
3	P10	50.1	0,71	-6.210	-11.028
		49.6		-6.710	-11.916
4	P11	50.2	0,20	-6.110	-10.851
		50.34		-5.970	-10.602
5	P13	53,43	2,022	-2,880	-5,115
		54,98		-1,330	-2,362
6	Referencia	56,06	0,628	-0,25	-0,440
		56,56		+0,25	+0,440

Fuente: primaria

En la metodología ECLIA, el CV% del Laboratorio de Referencia fue 0.628%, y se obtuvo que el mayor Coeficiente de variación porcentual de los participantes fue 2,142% y el menor 0,20%. La veracidad intralaboratorial a través de la valoración del Error Absoluto (E) tuvo un valor máximo -8,520UI/mL y el mínimo -1,330UI/mL respecto del Valor de referencia. Así mismo el Error Relativo (E%) máximo fue de -15,131% y el mínimo, -2,36%.

Tabla 6. Precisión de la concentración de Ig E total, nivel I, para la metodología ELISA.

N°	Laboratorio	Metodología	Resultado (UI/mL)	CV (%)
1	P18	ELISA	60	15,71
			75	
2	P15	ELISA	21	0,42
			24	
3	P16	ELISA	49	4,20
			52	
4	P17	ELISA	54,04	0,26
			53,84	

Fuente: primaria

En la metodología ELISA, el mayor Coeficiente de variación porcentual de los participantes fue 15,71 % y el menor 0,26%.

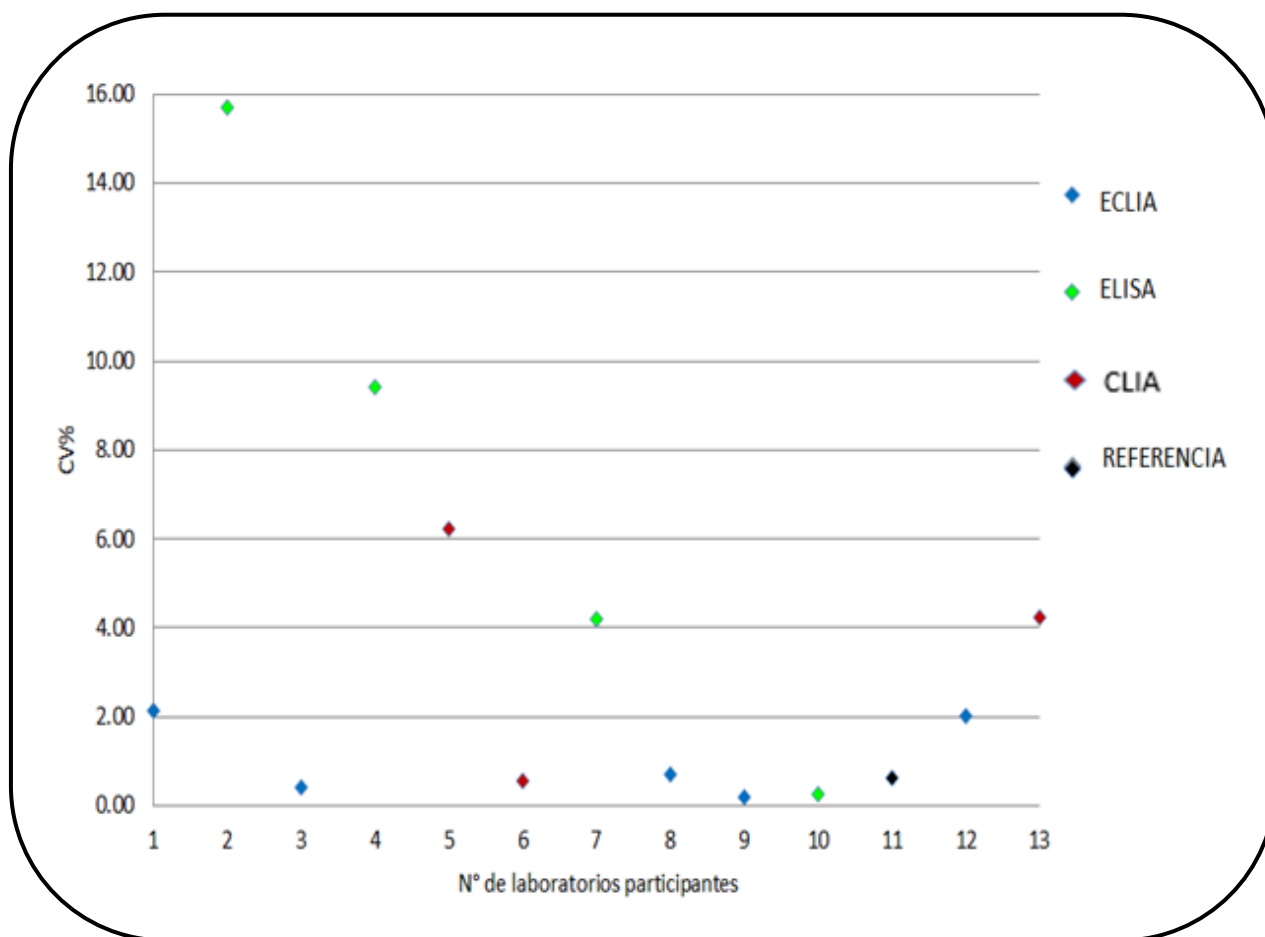
Tabla 7. Precisión de la concentración de Ig E total, nivel I, para la metodología QUIMIOLUMINISCENCIA.

N°	Laboratorio	Metodología	Resultado	CV%
1	P20	CLIA	35,8	6,23
			39,1	
2	P19	CLIA	63,1	0,56
			62,6	
3	P21	CLIA	66,49	4,24
			70,60	

Fuente: primaria

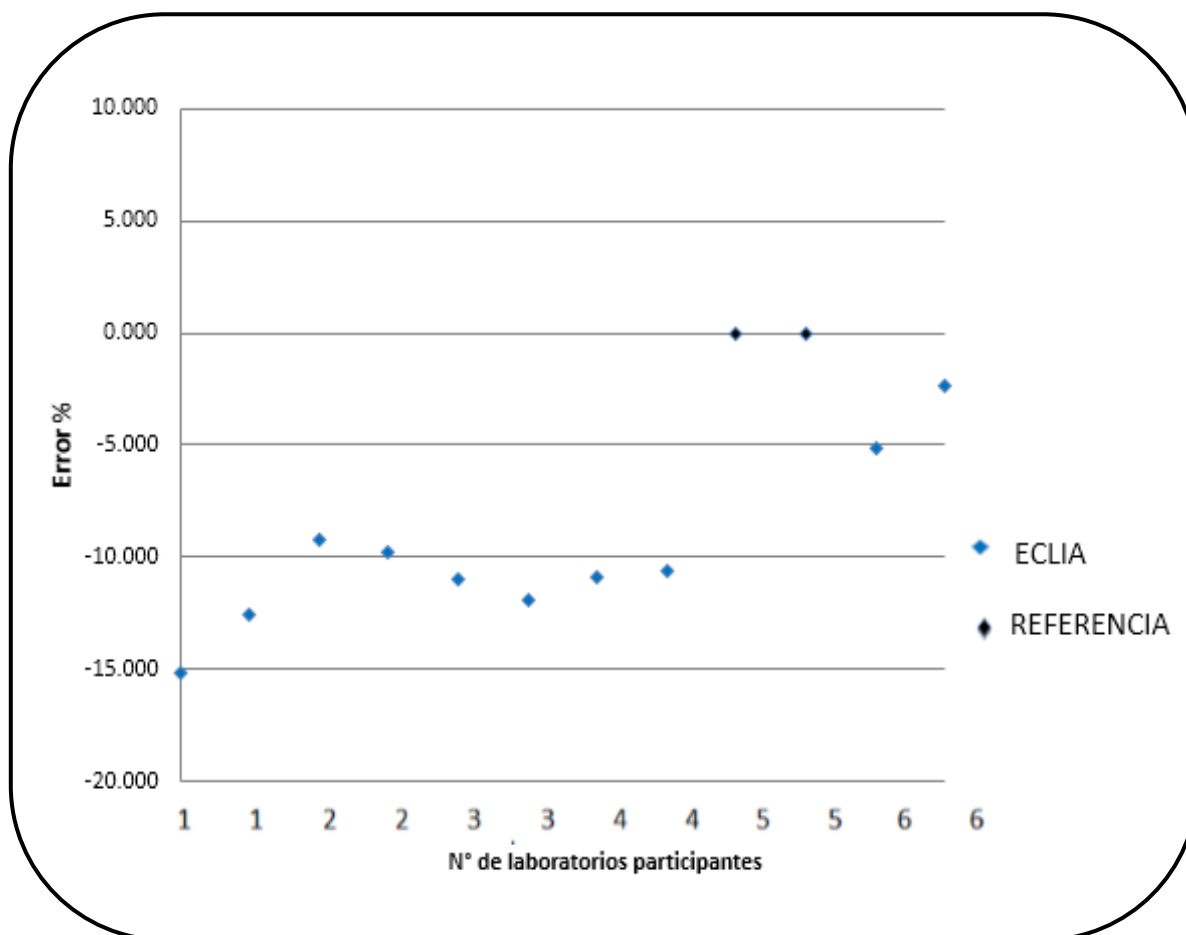
En la metodología QUIMIOLUMINISCENCIA, el mayor Coeficiente de variación porcentual de los participantes fue 6,23 % y el menor 0,56%.

Gráfico 6. Precisión intralaboratorial en la medición de Ig E total, nivel I, según metodologías.



Fuente: primaria, Tabla N° 5, 6 y 7.

Gráfico 7. Veracidad intralaboratorial en la medición de Ig E total, nivel I en ECLIA



Fuente: primaria. Tabla N° 5

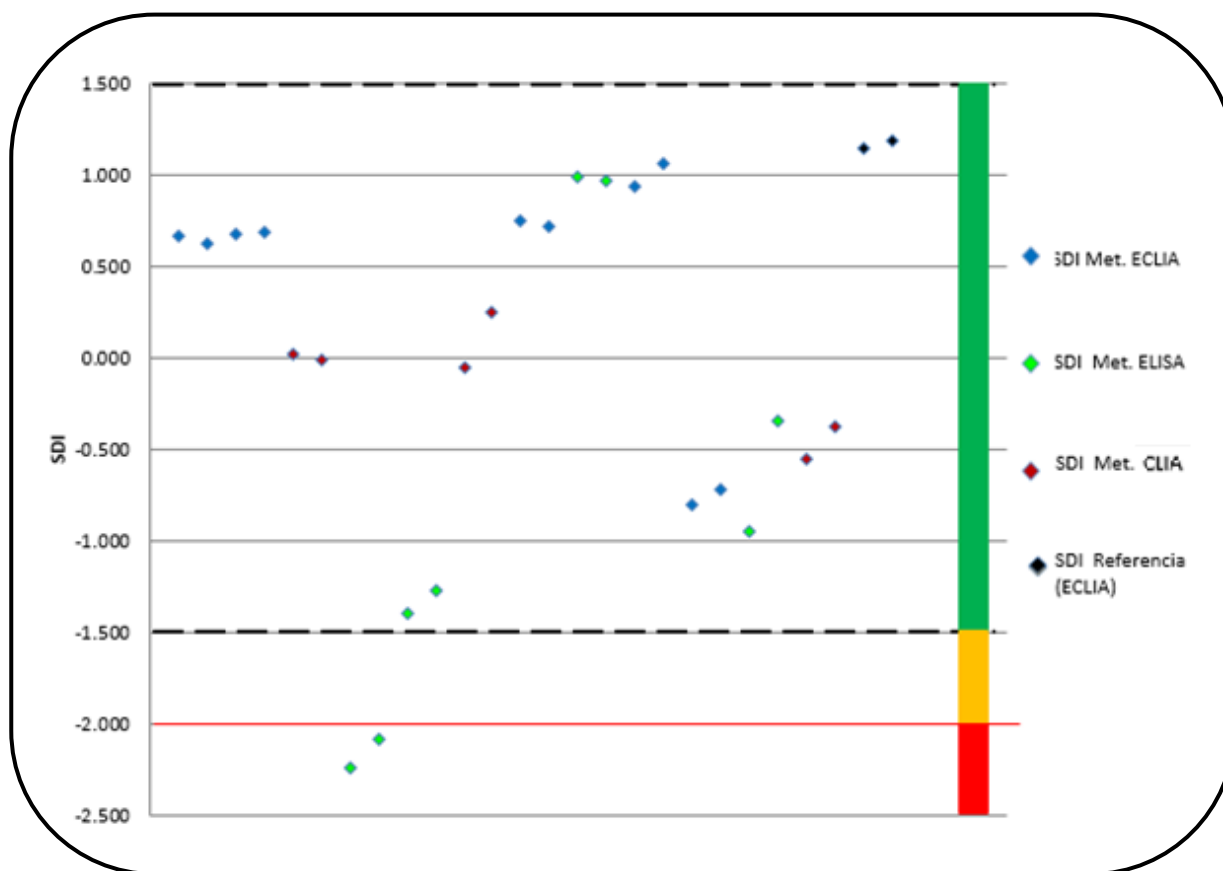
Tabla 8. Ratios y SDI interlaboratorial de las mediciones de Ig E total, nivel I, por metodología.

N°	Laboratorio	Resultado (UI/mL)	Metodología	Ratio	SDI
1	P10	50,1	ECLIA	0,501	0.669
		49,6		0,496	0.629
2	P11	50,2	ECLIA	0,502	0.677
		50,34		0,503	0.689
3	P19	63,1	CLIA	0,421	0.022
		62,6		0,417	-0.005
4	P15	21	ELISA	0,140	-2.242
		24		0,160	-2.081
5	P16	49	ELISA	0,245	-1.395
		52		0,260	-1.274
6	P20	35,8	CLIA	0,411	-0.052
		39,1		0,449	0.253
7	P12	51,1	ECLIA	0,511	0.750
		50,8		0,508	0.726
8	P17	54,04	ELISA	0,540	0.987
		53,84		0,538	0.971
9	P13	53,43	ECLIA	0,534	0.938
		54,98		0,550	1.063
10	P14	47,79	ECLIA	0,319	-0.802
		49,26		0,328	-0.723
11	P18	60	ELISA	0,300	-0.952
		75		0,375	-0.347
12	P21	66,49	CLIA	0,350	-0.549
		70,6		0,372	-0.374
13	Referencia	56,06	ECLIA	0,56	1,145
		56,56		0,565	1,185
		\bar{X} grupal	0,418		
		DS grupal	0,124		

Fuente: primaria

En la tabla 8, se exponen los valores de SDI formulados a partir de los valores RATIO. De esta forma podemos revelar, con el fin de evaluar la calidad interlaboratorial de los participantes, la dispersión de los resultados entre ellos mismos frente a la media del grupo; se aprecia que el valor máximo de SDI fue -2,242 y el menor, -0,005.

Gráfico 8. SDI interlaboratorial de los ratios de Ig E total, nivel I, por metodología.



Fuente: primaria. Tabla N° 8.

Tabla 9. Precisión y veracidad de la concentración de Ig E total, nivel II, para la metodología ECLIA.

N°	Laboratorio	Metodología	Resultado (UI/mL)	CV (%)	Error (UI/mL)	Error (%)
1	P5	ECLIA	247,5	0,03	-25,750	-9,424
			247,6		-25,650	-9,387
2	P4	ECLIA	262	1,65	-11,250	-4,117
			268,2		-5,050	-1,848
3	P1	ECLIA	228,6	1,92	-44,650	-16,340
			234,9		-38,350	-14,035
4	P2	ECLIA	259,8	0,11	-13,450	-4,922
			259,4		-13,850	-5,069
5	P3	ECLIA	247,2	1,30	-26,050	-9,533
			242,7		-30,550	-11,180
6	Referencia	ECLIA	272,7	0,28	-0,550	-0,002
			273,8		0,550	0,002

Fuente: primaria

En la metodología ECLIA, el CV% del Laboratorio de Referencia fue 0,28%, y se obtuvo que el mayor Coeficiente de variación porcentual de los participantes fue 1,92% y el menor 0,03%. La veracidad intralaboratorial a través de la valoración del Error Absoluto (E) tuvo un valor máximo de -44,650UI/mL, y el mínimo -5,050UI/mL respecto del Valor de referencia. Así mismo el Error Relativo (E%) máximo fue de -16,340% y el mínimo, -1,848%.

Tabla 10. Precisión de la concentración de Ig E total, nivel II, para la metodología ELISA.

N°	Laboratorio	Metodología	Resultado (UI/mL)	CV (%)
1	P6	ELISA	190	57,68
			451,8	

Fuente: primaria

En la metodología ELISA, el coeficiente de variación del participante fue 57,68%.

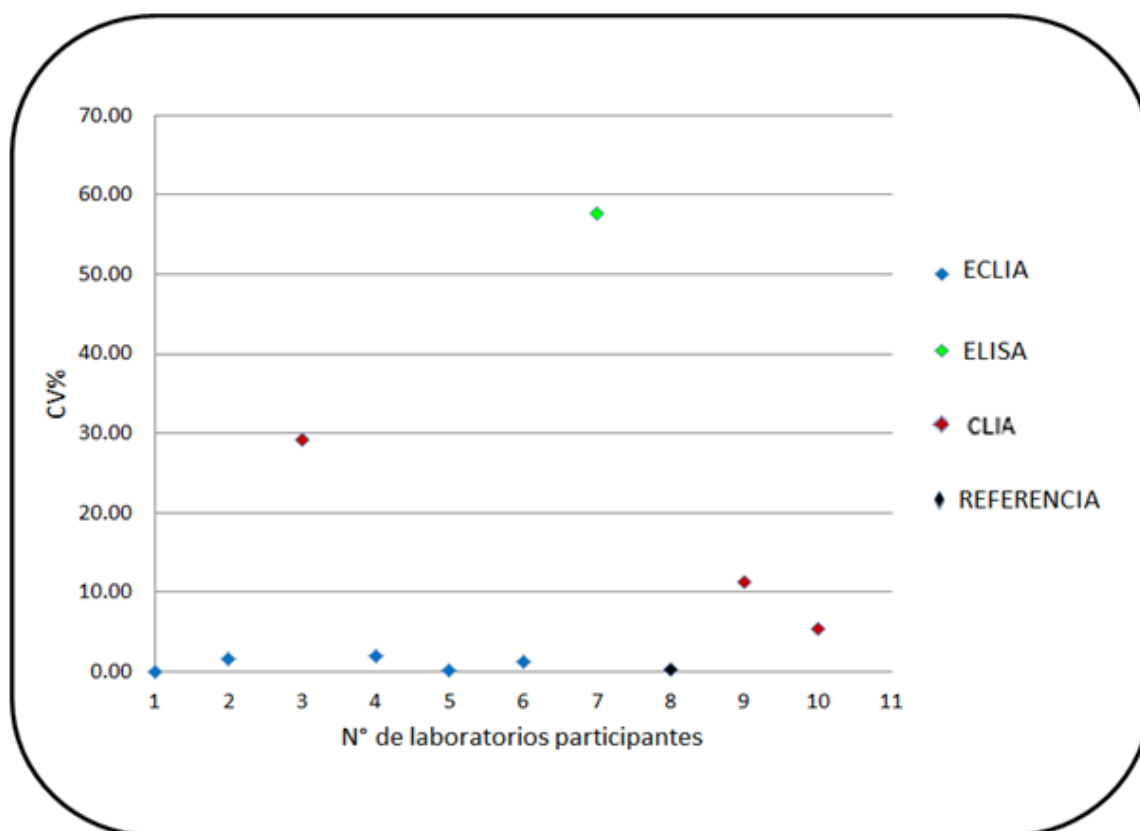
Tabla 11. Precisión de la concentración de Ig E total, nivel II, para la metodología QUIMIOLUMINISCENCIA.

N°	Laboratorio	Metodología	Resultado (UI/mL)	CV (%)
1	P9	CLIA	271	29,20
			412	
2	P7	CLIA	250	11,30
			213	
3	P8	CLIA	297,12	5,41
			275,23	

Fuente: primaria

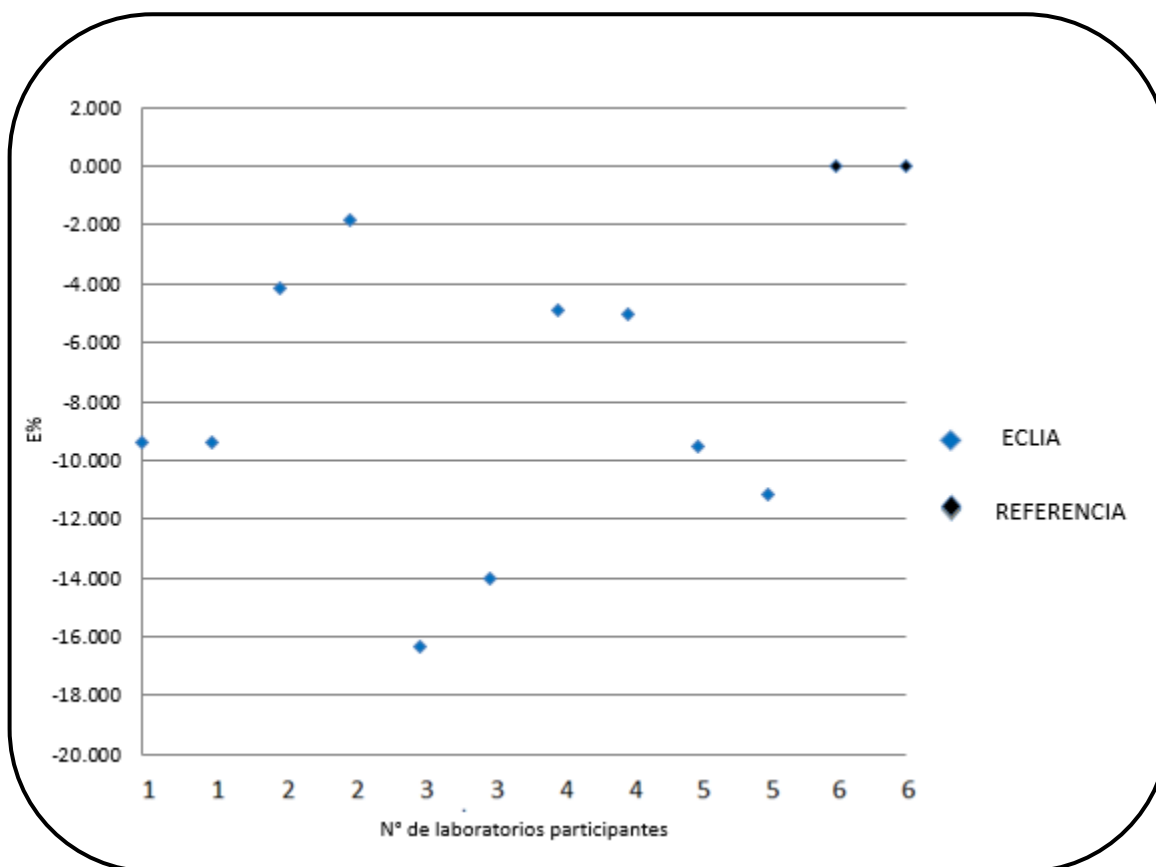
En la metodología QUIMIOLUMINISCENCIA, el mayor Coeficiente de variación porcentual de los participantes fue 29,20 % y el menor 5,41%.

Gráfico 9. Precisión intralaboratorial en la medición de Ig E total, nivel II, por metodologías.



Fuente: primaria. Tabla N° 9, 10 y 11.

Gráfico 10. Veracidad intralaboratorial en la medición de Ig E total, nivel II, para ECLIA



Fuente: primaria. Tabla N° 9.

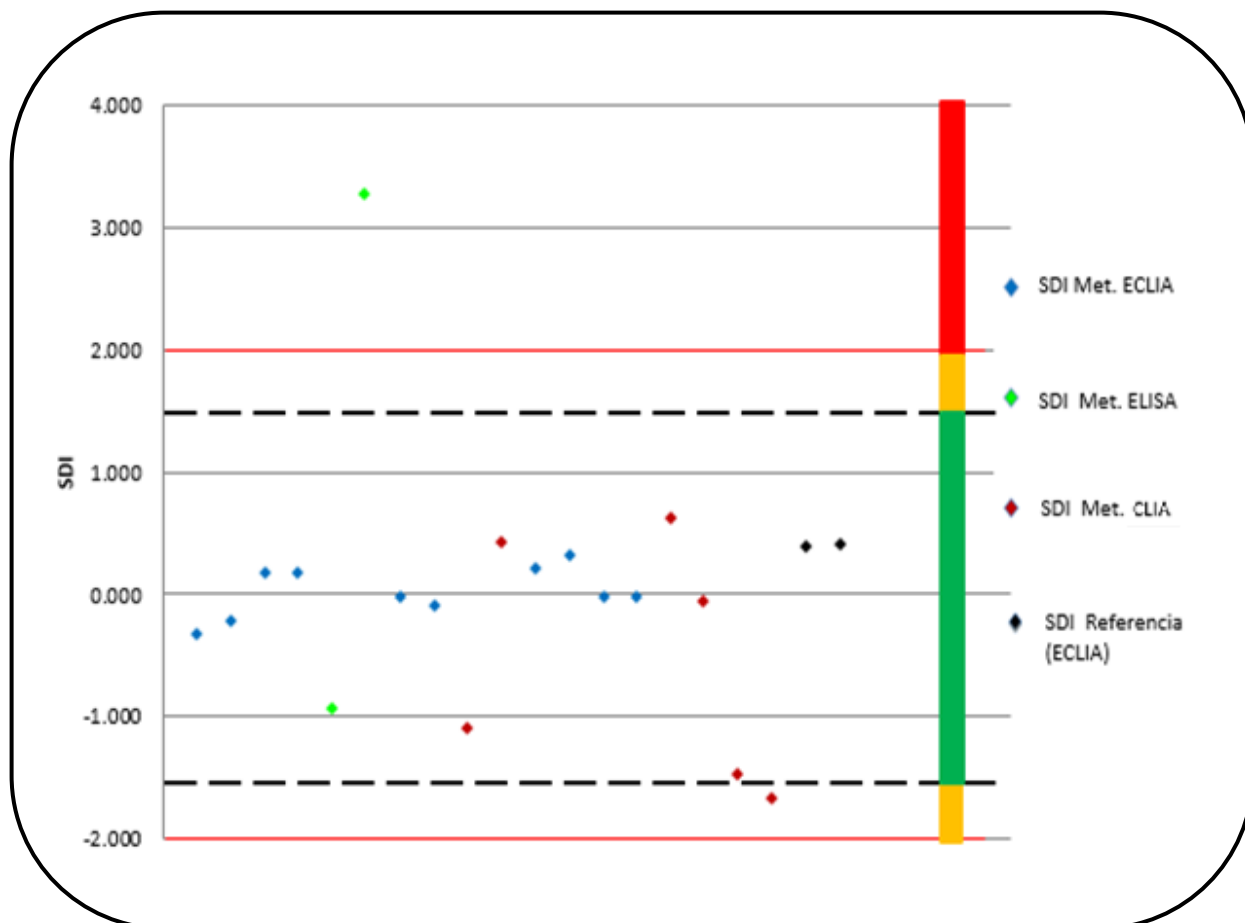
Tabla 12. Ratios y SDI interlaboratorial de las mediciones de Ig E total, nivel II, por metodología.

N°	Laboratorio	Resultado (UI/mL)	Metodología	Ratio	SDI
1	P1	228,6	ECLIA	2.286	-0.323
		234,9		2.349	-0.222
2	P2	259,8	ECLIA	2.598	0.178
		259,4		2.594	0.172
3	P6	190	ELISA	1.900	-0.944
		451,8		4.518	3.265
4	P3	247,2	ECLIA	2.472	-0.024
		242,7		2.427	-0.096
5	P9	271	CLIA	1.807	-1.094
		412		2.747	0.417
6	P4	262	ECLIA	2.620	0.214
		268,2		2.682	0.314
7	P5	247,5	ECLIA	2.475	-0.019
		247,6		2.476	-0.018
8	P7	250	CLIA	2.874	0.621
		213		2.448	-0.062
9	P8	297,12	CLIA	1.564	-1.484
		275,23		1.449	-1.669
10	Referencia	272,7	ECLIA	2.727	0.386
		273,8		2.738	0.404
		X̄ grupal	2,487		
		DS grupal	0,622		

Fuente: primaria

En la tabla 12, se exponen los valores de SDI formulados a partir de los valores RATIO. De esta forma podemos revelar, con el fin de evaluar la calidad interlaboratorial de los participantes, que el valor máximo de SDI fue 3,265 y el menor, -0,018.

Gráfico 11. SDI interlaboratorial de los ratios de Ig E total, nivel II, por metodología.



Fuente: primaria. Tabla N° 12.

VIII. DISCUSIÓN

VIII. DISCUSIÓN

Las referencias bibliográficas donde se evalúan la calidad de los resultados emitidos por laboratorios de análisis clínicos datan desde finales de la década del 80, teniendo mayor impacto en el área de Bioquímica y Bioquímica Clínica, cuyas pruebas se encuentran en su mayoría estandarizadas a nivel internacional y monitorizadas por una amplia lista de operaciones de control de calidad aplicadas a las labores que el área requiere: desde las medidas pre analíticas hasta los rangos de referencia de normalidad y las unidades en las que estas son reportadas.

Así como la investigación de Marianela Vargar U. y cols, donde junto a 30 laboratorios costarricenses logra obtener el coeficiente de variación interlaboratorial para analitos bioquímicos conocidos: Glucosa 12.4%, Ácido úrico 15.4%, Creatinina 15.5%, Nitrógeno ureico 15.7%, Proteínas totales 8.7%, entre otras; sugiriendo de manera urgente y a modo de conclusión, la promoción de un programa nacional de estandarización de resultados de laboratorio⁷.

Más adelante, luego de numerosos estudios enfocados a pruebas bioquímicas, en el año 2006 un estudio ejecutado por la Fundación Bioquímica de Argentina en el que se reprodujo un Programa de Control de Calidad Externo con la colaboración de 250 laboratorios, se evaluó Coeficiente de variación interlaboratorial de cada grupo de laboratorios que utiliza la misma marca comercial, Desvío Relativo Porcentual de todos y Desvío Relativo Porcentual de cada grupo de laboratorios que utiliza la misma marca comercial encontrando numerosos laboratorios dentro de valores aceptables³.

De igual forma en este estudio se estimó la precisión y veracidad intralaboratorial mediante el CV% y Error relativo de cada participante, respectivamente; y la calidad inter laboratorial a través del SDI.

En la evaluación de los resultados de la medición del suero de nivel I mediante la metodología ECLIA, se observó que ninguno de los resultados se encuentra dentro de las 3 DS establecidas respecto del valor de referencia. Ante la evaluación de los valores RATIO, se observó que existe un valor que se encuentra ubicado en el límite inferior de lo permisible ($-3DS$ del valor de referencia) siendo este valorado por la metodología ECLIA (Anexo 5).

Ante el análisis del SDI de cada laboratorio participante y el de referencia, se observó que 24 mediciones se encuentran dentro del rango óptimo y 2 en el rango no aceptable o de baja calidad; y que la valoración más próxima a la media grupal fue la medición por Quimioluminiscencia, seguida de ECLIA y finalmente ELISA.

Para el Nivel II, según la metodología ECLIA, ninguno de los resultados se encuentra dentro de las 3 DS establecidas respecto del valor de referencia. En RATIO, se observó que uno de los laboratorios se encuentra dentro de los límites permisibles, quien empleó metodología Quimioluminiscente para la determinación (Anexo 5).

En el caso del SDI para este nivel, se observó que 18 laboratorios se encuentran dentro del rango óptimo, 1 laboratorio en el rango aceptable y 1 en el rango no aceptable o de baja calidad; y que las metodologías cuya medición se encuentran próximas a la media grupal fueron ECLIA, Quimioluminiscencia y ELISA, en este orden.

Sin embargo, se debe resaltar que el indicador SDI mide la distancia que existe entre el valor informado de cada participante frente a la media grupal de los laboratorios quienes conforman la muestra en este estudio. Es decir, si uno de los participantes no ofrece un adecuado panorama en cuanto a precisión y/o veracidad y sin embargo, obtiene uno de los mejores valores de SDI, estaríamos frente a un laboratorio que no maneja una adecuada calidad intralaboratorial, y

que a pesar de ello, comparándolo sólo con participantes incluidos en esta investigación este contaría con una adecuada calidad interlaboratorial.

La quimioluminiscencia es un método de lectura que se basa en el principio de emisión luminosa a través de una reacción (Enzima-Sustrato). Los laboratorios de investigación que han desarrollado estos ensayos de quimioluminiscencia han demostrado la excelente correlación con los ensayos de referencia, como los automatizados y Radioinmunoanálisis, donde encuentran precisión, baja reactividad cruzada, gran sensibilidad analítica sobre el orden de diez veces más sensible que la mayoría de los ensayos de hoy en día²⁵.

Los inmunoensayos enzimáticos y radioinmunoensayos son técnicas de alta sensibilidad capaces de cuantificar esta inmunoglobulina: el radioinmunoensayo (RIA) presenta un isótopo radioactivo como marcador y en los enzimoimmunoanálisis (EIA) el marcador es una enzima unida covalentemente a un antígeno o anticuerpo donde se mide la actividad enzimática pudiendo ser actividad colorimétrica, fluorométrica o luminiscente³⁵.

Así también, La electroquimioluminiscencia ha sido reconocida desde inicios de la década del 90 como una metodología por la amplia sensibilidad que demuestra en su desempeño en el cual especies reactivas son generadas a partir de compuestos estables en la superficie de un electrodo. Además ha demostrado sus ventajas sobre otras metodologías: no usa radioisótopos, límite de detección extremadamente bajo, extendida linealidad, sistema de marcaje altamente estable comparado con los sistemas quimioluminiscentes, el marcador puede ser usado marcar haptenos o grandes moléculas, y múltiples marcadores pueden ser emparejados a proteínas u oligonucleótidos sin afectar la inmunoreactividad, solubilidad o posibilidad de hibridarse²³.

Así pues, se observó en este estudio que entre todas las metodologías aplicadas, la más precisa fue la Electroquimioluminiscencia seguida de la Quimioluminiscencia y por último la metodología ELISA.

Así también, se observa que la mayoría de laboratorios, incluso aquellos que aplicaron metodologías de alta precisión y se ve reflejado en sus indicadores, miden Ig E total por defecto respecto al valor de referencia.

En diferentes, remotas y actuales bibliografías, se encuentran referencias sobre la estabilidad de la Inmunoglobulina E en suero o plasma bajo condiciones refrigeración (4°C) o congelación (-20 a -70 °C) dependiendo del tiempo que pasará antes de su medición^{15, 33}.

Debido a esto, se presume de ciertas variables que sí pueden haber influenciado en la variación de los resultados informados por los laboratorios participantes: factores de la fase analítica como el manejo de control de calidad, mantenimiento del analizador, calidad de reactivos, controles y calibradores. Se tiene conocimiento que siendo el analito de estudio la Inmunoglobulina E total una molécula de alto peso molecular, esta necesita de cierta cantidad de anti anticuerpo (anti Ig E) mayor que otros analitos convencionales, por lo que un reactivo deteriorado o caducado puede causar fallas de este tipo en la parte analítica del proceso.

Además, se tiene en cuenta que para muchos kits para determinación de Ig E total por metodología ELISA se usan estándares para estructurar una curva de puntos sobre la cual se dispone la lectura de la muestra de evaluada³⁶. Estas muestras estándar por su naturaleza acuosa, puede influenciar los resultados finales debido a lo que se conoce como *efecto matriz*, el cual consiste en la disminución o aumento de la respuesta instrumental del analito debido a la presencia de otros componentes, es decir, que para la misma concentración de analito, el análisis de

una disolución estándar del analito puro no proporciona la misma respuesta instrumental^{37, 38}.

Sin embargo las metodologías como ECLIA y Quimioluminiscencia emplean entre sus suministros sueros Calibradores, los cuales son de matriz humana, por lo que se sospecha reproducirían mejor los resultados de las muestras humanas evaluadas.

IX. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

IX.1. CONCLUSIONES

Del estudio de la calidad intra e interlaboratorial en la determinación de Ig E total en suero en Laboratorios de análisis clínicos en Lima se concluye lo siguiente:

1. La metodología Electroquimioluminiscencia (ECLIA) fue la más precisa tanto para la determinación de Ig E total del suero de Nivel I como del Nivel II y la de mayor imprecisión, la metodología ELISA.
2. La imprecisión fue mayor en el nivel II que en el nivel I, en las mediciones bajo las metodologías ELISA y CLIA.
3. La imprecisión fue mayor en el nivel I que en el nivel II, respecto a las mediciones bajo la metodología ECLIA.
4. La mayoría de laboratorios participantes presentaron error por defecto respecto al valor de referencia.
5. Los resultados informados de la concentración de Ig E total en la mayoría de los laboratorios participantes estuvieron fuera de los límites de calidad de la veracidad.
6. La mayoría de los laboratorios (95%) presentaron SDI entre óptimo y aceptable.
7. El almacenamiento del material de estudio, no influyó en la variación de resultados de la determinación de Ig E total.

IX.2. RECOMENDACIONES

- La muestra destinadas a la medición de Ig E total debe permanecer bajo condiciones de refrigeración en caso su fecha de procesamiento supere los 2 días o bajo congelación en caso la fecha se deba prolongar.
- Promover la ejecución de estudios afines donde se demuestre la necesidad de la uniformidad en el tipo de metodología empleada en la determinación de Inmunoglobulina E total.
- Los laboratorios nacionales y privados deben procurar y velar la mejora continua de los resultados que ofrecen a sus pacientes.

X. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1.- Méndez Chacón E., Rosero-Bixby L., Fernández Rojas X., Barrantes Jimenez K. Comparación de los resultados de pruebas de laboratorio seleccionadas de un estudio poblacional de adultos mayores de Costa Rica. Revista electrónica "Población y Salud en Mesoamérica". Volumen 5, número 1, artículo 4. 2007.
- 2.- IFCC-WASPaLM. Acreditación de Laboratorio Clínico: Declaración de Política. RevMex Patol Clin 2006; 53(3): 174-177.
- 3.- Alcira Mariani Virginia y María Ofelia Sola. Programa de Evaluación Externa de Calidad: Comparación metodológica para T4 libre. Acta bioquímica clínica Latinoamericana v.40 n.3 La Plata jul./sep. 2006.
- 4.- Dr. H. Seuc Jo.Armando y Dr. Aldama FigueroaAlfredo. La evaluación estadística de la precisión de las mediciones en un laboratorio clínico. Instituto Nacional de Angiología y Cirugía Vascular. Revista Cubana Angiología y Cirugía Vascular. 2002;3(1):45-54.
- 5.- Bagnarelli, Dr. Aníbal E. Incertidumbre en los resultados del laboratorio clínico. Bioquímica y Patología Clínica, Vol. 72, Núm. 1, 2008, pp. 11-16. Asociación Bioquímica Argentina. Argentina.
- 6.- Terrés-SpezialeArturo M. Estimación de la incertidumbre y de la variabilidad total en el laboratorio clínico. Revista Mexicana Patología Clínica, Vol. 53, Núm. 4, pp 185-196 • Octubre - Diciembre, 2006.
- 7.- Vargas U. Marianela, León A. Dennis, Orlich M.Jessie, Schosinsky N. Karl. Variabilidad Interlaboratorio en Química Clínica en un grupo de laboratorios clínicos costarricenses. Revista Costarricense de Ciencias Médicas. 1989. 10;4.
- 8.- Peiró, Salvador; Berlanga, Eugeni; Prats, Francesc; Ruiz, M Àngels; Mora, Carme; Soriano, Pilar; Urcola, Marisa; Villá, M Carme. Variabilidad intra e interlaboratorios en la determinación de la glucosa plasmática. Implicaciones para los estudios epidemiológicos y la práctica clínica. Revista de Calidad Asistencial. 2003;18:80-6. - vol.18 número 02.

- 9.- Méndez Chacón Ericka, Rosero-Bixby Luis, Fernández Rojas Xinia, Barrantes Jiménez Kenia. Comparación de los resultados de pruebas de laboratorio seleccionadas de un estudio poblacional de adultos mayores de Costa Rica. Revista electrónica Población y Salud en Mesoamérica. Volumen 5, número 1, artículo 4. Número especial CRELES – Costa Rica: Estudio de Longevidad y Envejecimiento Saludable. Junio – Diciembre 2007.
- 10.- Vargas Picado Marco Antonio, Vargas Umaña Marianela y Astua Vega Jorge. Resultados de un programa de estandarización interlaboratorios y evaluación externa de la calidad para el perfil lipídico en Costa Rica. Revista Costarricense de Ciencias Médicas v.19 n.3-4 San José dic. 1998.
- 11.- Virginia Alcira Mariani y María Ofelia Sola. Programa de Evaluación Externa de Calidad: Comparación metodológica para T4 libre. Acta bioquímica clínica latinoamericana v.40 n.3 La Plata jul./sep. 2006
- 12.- Alva-Estrada Sergio I. y Elvia M. Caba. Programa de evaluación de la calidad entre laboratorios. XXVII. Resumen de once años de evaluación en química clínica. LABORAT-acta Vol. 13 No. 4 2001.
- 13.- F. García-Cozar, E. Aguado y J. Peña. Inmunoglobulinas.
- 14.- Arruda Chaves Erika. Pruebas diagnósticas en alergia y su utilidad clínica. Revista Médica Herediana 15 (2), 2004 113.
- 15.- López Hoyos Marco. Estandarización de Ige específica. Documento Consenso del Comité de Inmunología Clínica. Sociedad Española de Alergología e Inmunología Clínica. 2012.
- 16.- College of American Pathologist. Special Diagnostic Immunology Survey. College of American Pathologists. Skokie, Ill. 1978 – 1984.
- 17.- Adkinson, NF. Measurement of total serum immunoglobulin E and allergen-specific immunoglobulin E antibody. P-665. In N.R. Rose, H., Friedman, J.L. Fahey

(ed.), Manual of Clinical Laboratory Immunology. Third Edition, American Society for Microbiology, Washington, D.C. (1986).

18.-Czamy, D.Allergy., p-207, in Wells, V.J., Nelson, S.D. (ed.), clinical Immunology Illustrated. Williams and Wilkins. Adis Pty Limited, Sydney, Australia. 1986.

19.- IUIS/Who Working Group, (1988), Laboratory Investigations in clinical Immunology: Methods Pitfalls, and Clinical indication. A second IUIS/Who report, Geneva, Switzerland, February 1988. Clin. Immunol. Immunopathol. 49:478-497.

20.- Matarese Laura E. y Gottschlich Michele M.. Nutrición clínica práctica. Capítulo 5: Evaluación de la inmunidad (Bobbi Langkamp-Henker y Steven M. Wood) p-77. Edición número 2. Madrid, España. 2004.

21.- C. Navarro Navarrete, J. M. Pena Ezquerro, J. Trapé i Pujol, C. Aulesa Martínez, J. Botey i Sala y M. Sentís Vilalta. Determinación de la concentración de Inmunoglobulina E por enzimo inmunoanálisis de captura de micropartículas. Quimica Clínica 1992; 11 (6) 439-443.

22.- Abul K. Abbas *et al.* Inmunología celular y molecular. 6ta Edición. 2008. Elsevier España, S.L.

23.- Gary F. Blackburn *et al.* Electrochemiluminescence Detection for Development of Immunoassays and DNA Probe Assays for Clinical Diagnostics. Clinical Chemistry 37/9, 1534-1539 (1991).

24.- Igea Aznar Juan Manuel. ¿Atópico o alérgico? Clínica Alergoasma, Salamanca (España). Panace@. Volumen VIII, nº 25. Primer semestre, 2007.

25.- García Rodríguez, Carmiña; Martínez Maldonado, Ivon. Ventajas del método de Quimioluminiscencia frente al Radioinmunoanálisis (RIA). Visión Científica Nº 2. Volumen 1. Año 2007.

- 26.- Romero Valdez, Jorge Gustavo, Pereira Quirino, Atilio Zini Rodolfo y Dra. Canteros Gladys Elizabeth. Reacciones de Hipersensibilidad. Revista de Postgrado de la Via Catedra de Medicina. Nº 167. Marzo 2007.
- 27.- MuraliDhara. Control de Calidad en los Laboratorios Clínicos. Editorial REVERTÉ, S.A. Febrero 2002. Barcelona-España.
- 28.- Vega RobledoGloria Bertha. Antígenos e inmunógenos. Revista de la Facultad de Medicina UNAM. Volumen 52. Nº 1. Enero-Febrero 2009.
- 29.- Dra. Brito GaleanaFabiolaet al.Eosinófilos: Revisión de la literatura. Alergia, Asma e Inmunología Pediátricas.Volumen 12, Núm. 2 (pp 56-62).Mayo-Agosto 2003
- 30.- CastellsMaría Concepción. Biología celular y molecular del Mastocito. Rev.Esp. AlergolInmunolClín, Diciembre 1997 Vol. 12, Núm. 6, pp. 327-339.
- 31.-Bazaral Michael, Ph.D., HamburgerRobert N., M.D.Journal of Allergy and Clinical Immunology. Standardization and stability of immunoglobulin E (IgE). Volume 49, Issue 3, March 1972, Pages 189-191.
- 32 .-Zoltan Ovary, Takakiltaya, Joseph Santomauro, Gary Richmond. On the stability of IgE antibodies. Journal of Immunological MethodsVolume 24, Issues 1 - 2, November 1978, Pages 193-194.
- 33 .-HendersonaCassandra E. , OwnbycDennis, KlebanoffaMark,LevineaRichard J. Stability of immunoglobulin E (IgE) in stored obstetric sera. Journal of Immunological Methods, Volume 213, Issue 1, 1 April 1998, Pages 99-101.
- 34.- M. Fernández-Benítez. Métodos diagnósticos en alergia. Técnicas in vivo e in vitro. Protocolos diagnósticos y terapéuticos en pediatría. Revista de Inmunología Clínica y Alergología. 2004.

- 35.- DraBrugaletta M. Dorimar. Técnicas diagnósticas in vitro II. Revista de Alergología e Inmunología clínica de la Región Murcia. Murcia, España. 2009.
- 36.- Protocolo de kit de reactivos: Total Ig E. Prueba ELISA para la determinación cuantitativa de IgE total en suero humano. Fuente: www.human.de/data/gb/vr/el-ige.pdf
- 37.- García Fernández Ana Elena. Determinación de elementos de traza y ultratrazas en muestras de suero, orina y sangre mediante ICP-MS. Proyecto Fin de Máster. España – Oviedo. Junio. 2012.
38. Boqué Ricard. La selectividad en análisis químico. Grupo de Quimiometría y Cualimetría. Universidad Rovira i Virgili (Tarragona). Fuente: <http://www.quimica.urv.es/quimio>

XI. ANEXOS

ANEXO 1: FICHA DE DATOS DEL LABORATORIO PARTICIPANTE

CALIDAD METROLÓGICA

FORMULARIO DE DATOS GENERALES DEL LABORATORIO PARTICIPANTE

Nombre del laboratorio	
Dirección exacta	
Distrito	
Referencia de la dirección	
Persona de contacto con el estudio	
Teléfono directo o personal	
E-mail	
Persona quien recibirá las muestras	
Teléfono directo o personal	
E-mail	
Segunda persona a cargo en caso la primera se encuentre ausente	
Teléfono directo o personal	
E-mail	
ENVIAR A calidadmetrologica@gmail.com	

<p align="center">FORMULARIO PARA DESCRIPCIÓN DE ETAPA PRE-ANALITICA Y ANALITICA Y POST ANALÍTICA DE LA DETERMINACIÓN DE INMUNOGLOBULINA E TOTAL EN SUERO</p>
--

CARACTERÍSTICAS DEL ANALIZADOR EMPLEADOR		
<u>Nombre y marca</u> del analizador empleado para la determinación		
<u>Nombre y marca</u> del reactivo empleado		
Fundamento o principio del analizador		
Especificación de equipo (espectrofotométrico, colorímetro u otro)		
Sistema de medición de muestra (manual con micropipeta automática o dispensación automática)		
Medición del equipo (manual por celda, por aspiración o totalmente automatizado)		
A CONTINUACIÓN LE PRESENTO LAS SIGUIENTES PREGUNTAS RESPECTO A LA RUTINA DE TRABAJO QUE MANTIENE SU LABORATORIO. POR FAVOR, RESPONDA TODAS LAS PREGUNTAS CON CLARIDAD.		
El analizador necesita el suministro de:		
Punteras de pipeta	SI	NO
Calidad de punteras de pipeta	NUEVAS	REUSADAS
Copas (pocillo para trasvasar suero)	SI	NO
Calidad de copas	NUEVAS	REUSADAS
Agua corriente	SI	NO

Agua destilada	SI	NO
Agua bidestilada	SI	NO
Agua desionizada	SI	NO
Solución de lavado preparado	SI	NO
Otros:		
Marque y responda Ud.: El analizador cuenta con la opción de:		
RESET	SI / NO	¿Con qué frecuencia lo usa? Rpta:.....
ACONDICIONAMIENTO	SI / NO	¿Con qué frecuencia lo usa? Rpta:.....
REACONDICIONAMIENT O	SI / NO	¿Con qué frecuencia lo usa? Rpta:.....
CEBADO DE PIPETA	SI / NO	¿Con qué frecuencia lo usa? Rpta:.....
¿A qué temperatura trabaja el analizador? Rpta:.....		
¿A qué hora del día es que empieza a trabajar el analizador? Rpta:.....		
Entonces, ¿A qué hora son analizados reactivos de control? Rpta:.....		
¿Son analizados una vez al día o una vez por turno? Rpta:.....		
Explique Ud., ¿en qué casos o con qué frecuencia emplea los reactivos calibradores? Rpta:.....		
¿El analizador recibe mantenimiento preventivo?	SI	NO
¿Con qué frecuencia?	Rpta:.....	
¿El analizador ha recibido mantenimiento correctivo?	SI	NO

¿Hace cuánto tiempo?	Rpta:.....	
¿Qué criterios emplea Ud. para validar los resultados de las pruebas realizadas con el analizador en cuestión?		
Rpta:.....		
Durante el proceso de análisis de muestras, ¿Es frecuente el uso de micropipetas y/o pipetas automáticas?	SI	NO
Fecha de última sesión de mantenimiento	Rpta:.....	
Respecto a las muestras de estudio, desde que las retiró de las condiciones de congelación hasta el análisis de las mismas, ¿Cuántas horas pasaron?	Rpta:.....	

<p align="center">RESULTADOS DE DETERMINACIÓN DE INMUNOGLOBULINA E TOTAL EN SUERO</p>
--

DETERMINACIÓN	CONCENTRACION DE SUERO A	CONCENTRACION DE SUERO B
Inmunoglobulina E total sérica		

Enviar a ingrid8tg@gmail.com

Gracias.

ANEXO 2: DISTRIBUCIÓN DE LABORATORIOS PARTICIPANTES DE ACUERDO A LA METODOLOGÍA EMPLEADA, RESULTADO Y VALOR DE REFERENCIA DE NORMALIDAD PARA LA MEDICIÓN DE IG E TOTAL.

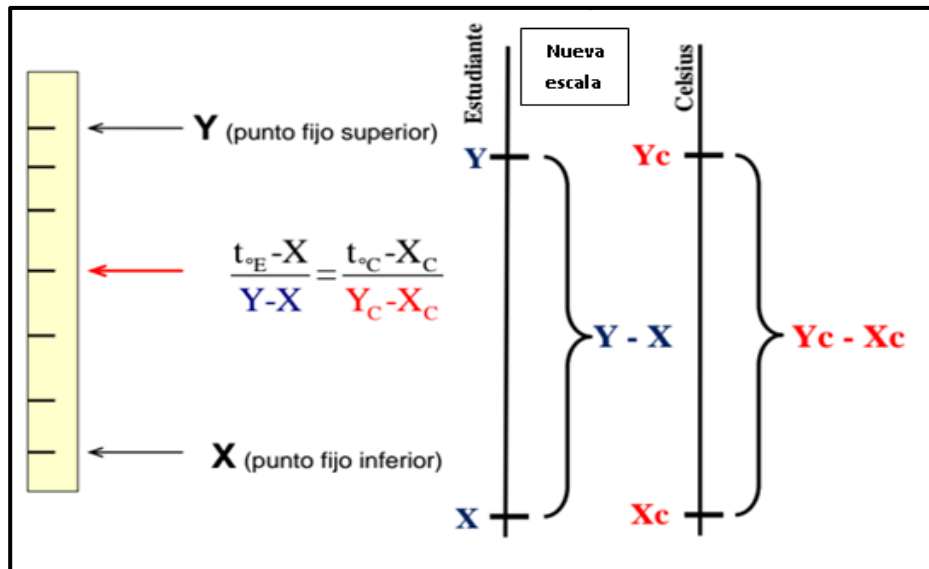
P1	ECLIA	228.6	0-100 UI/ml
		234.9	
P2	ECLIA	259.8	0-100 UI/ml
		259.4	
P3	ECLIA	247.2	0-99.9 UI/mL
		242.7	
P4	ECLIA	262	0-100 UI/ml
		268.2	
P5	ECLIA	247.5	0-100 UI/ml
		247.6	
P6	ELISA	190	0-100 UI/mL
		451.8	
P7	QUIMIOLUMINISCENCIA (CLIA)	250.0	0-87 UI/mL
		213.0	
P8	QUIMIOLUMINISCENCIA (CLIA)	297.12	0-190 UI/mL
		275.23	
P9	QUIMIOLUMINISCENCIA (CLIA)	271	0-150 UI/mL
		412	
P10	ECLIA	50.1	0-99.9 IU/mL
		49.6	
P11	ECLIA	50.2	0-100 UI/mL
		50.34	
P12	ECLIA	51.1	0-99.9 UI/mL
		50.8	
P13	ECLIA	53.43	0-100 UI/mL
		54.98	
P14	ECLIA	47.79	0-100 UI/mL
		49.26	
P15	ELISA	21	0-150 UI/mL
		24	
P16	ELISA	49	0-200 IU/mL
		52	
P17	ELISA	54.04	0-100 UI/mL
		53.84	
P18	ELISA	60	0-200 IU/mL
		75.00	

P19	QUIMIOLUMINISCENCIA (CLIA)	63.1	0-150 IU/mL
		62.6	
P20	QUIMIOLUMINISCENCIA (CLIA)	35.8	0-87 UI/mL
		39.1	
P21	QUIMIOLUMINISCENCIA (CLIA)	66.49	0-190 UI/mL
		70.60	
P22	ECLIA (Laboratorio de referencia)	272.7	0 - 100 UI/ mL
		273.8	
		56.06	
		56.56	

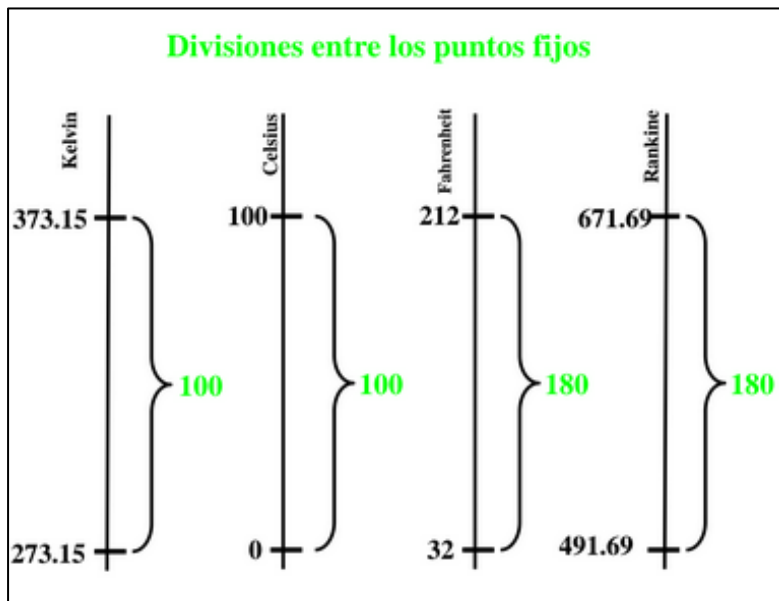
ANEXO 3: TEOREMA DE TALES DE MILETO

“Si tres o más paralelas son cortadas por dos transversales, los segmentos que las paralelas determinan en éstas son proporcionales.”

Aplicación en la Transformación de escalas:



Ejemplo:



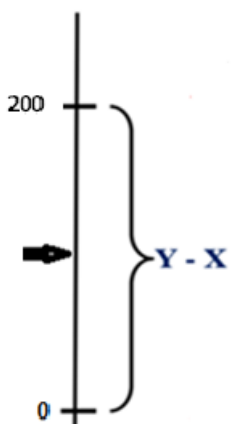
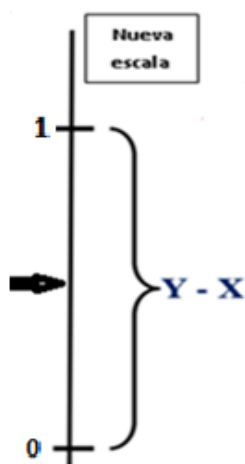
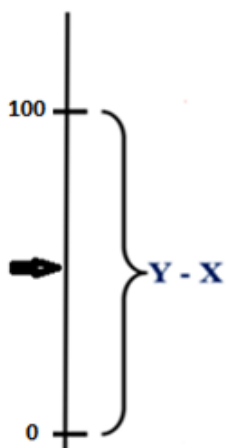
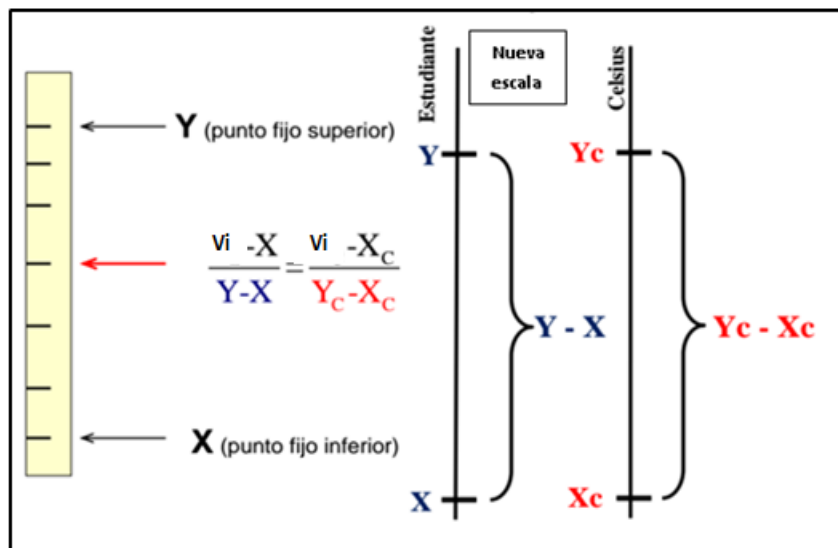
$$\frac{t_E - X}{Y - X} = \frac{t_C - X_C}{Y_C - X_C}$$

$$\frac{^{\circ}\text{C} - 0}{100} = \frac{^{\circ}\text{F} - 32}{180}$$

Simplificando:

$$\frac{^{\circ}\text{C}}{5} = \frac{^{\circ}\text{F} - 32}{9}$$

ANEXO 7. EJEMPLOS DE APLICACIÓN DE TRANSFORMACIÓN DE ESCALAS



$$\frac{vi - X}{Y - X} = \frac{vi - Xc}{Yc - Xc}$$

Ejemplo:

Laboratorio A (suero nivel I)

Rango de referencia: 0-100 UI/mL

Valor informado: 56 UI/mL

Transformándolo a RATIO:

$$56 - 0 / 100 = 0,56$$

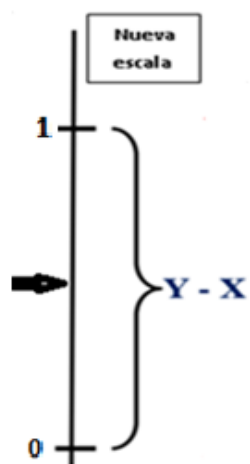
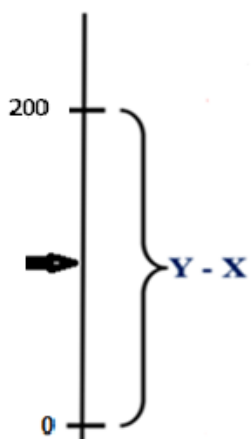
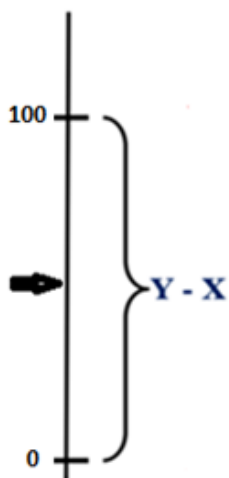
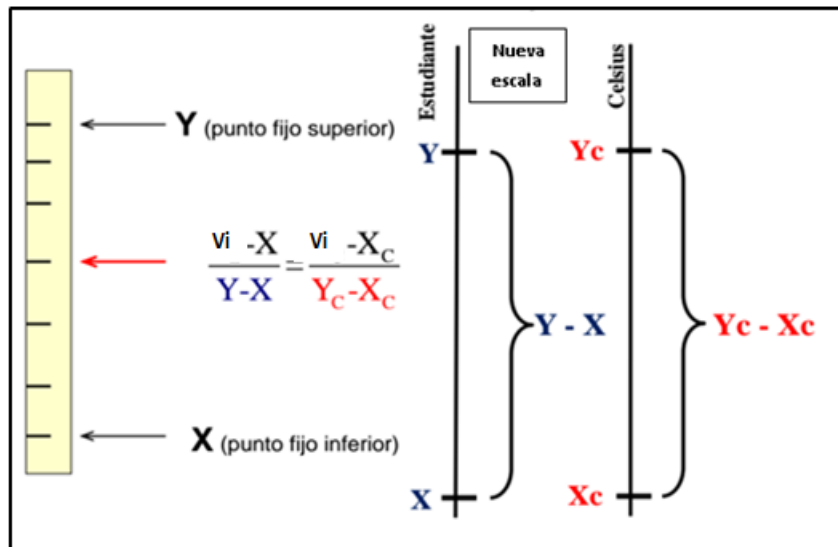
Laboratorio B (suero nivel I)

Rango de referencia: 0-200 UI/mL

Valor informado: 110 UI/mL

Transformándolo a RATIO:

$$110 - 0 / 200 = 0,55$$



$$\frac{vi - X}{Y - X} = \frac{vi - Xc}{Yc - Xc}$$

Ejemplo:

Laboratorio D (suero nivel II)

Rango de referencia: 0-100 UI/mL

Valor informado: 166 UI/mL

Transformándolo a RATIO:

$$166 - 0 / 100 = 1,66$$

Laboratorio E (suero nivel II)

Rango de referencia: 0-200 UI/mL

Valor informado: 260 UI/mL

Transformándolo a RATIO:

$$260 - 0 / 200 = 1,30$$

ANEXO 4: CONSENTIMIENTO INFORMADO



CONSENTIMIENTO INFORMADO
UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)



FACULTAD DE MEDICINA
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE TECNOLOGIA MEDICA
AREA DE LABORATORIO CLINICO Y ANATOMIA PATOLOGICA
VARIABILIDAD INTERLABORATORIAL EN LA DETERMINACIÓN DE
INMUGLOBULINA E TOTAL EN LABORATORIOS DE ANALISIS CLINICOS DE
LIMA - METROPOLITANA.

CONSENTIMIENTO INFORMADO

INVESTIGADOR:

INGRID SARITA TORRES GUERRERO. Tesista de la Escuela Académico Profesional de Tecnología Médica – Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica. Mg. MIGUEL HERNAN SANDOVAL VEGAS. Asesor de Tesis. Profesor Asociado. Facultad de Medicina “San Fernando” - UNMSM

PRESENTACIÓN

Dentro de las actividades de investigación de la UNMSM, aprobadas por Resolución de Decanato N° 1083-D-FM-2013 y mediante el expediente N° 11325-FM-2013 de la Unidad de Trámite Documentario y Archivo de la Facultad de Medicina, se encuentra en desarrollo el proyecto de investigación titulado “*Calidad intra e interlaboratorial en la determinación de Inmunoglobulina E total en suero en laboratorios de análisis clínicos de Lima – Metropolitana*”, con metodología de estudio transversal, descriptivo, observacional y prospectivo, sin intervención y con sistema de medición.

OBJETIVOS

OBJETIVOS GENERALES

-Determinar la calidad intra e interlaboratorial en la determinación de Inmunoglobulina E total en laboratorios de análisis clínicos de Lima – Metropolitana.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

-Analizar la precisión en la determinación de Inmunoglobulina E total en laboratorios de análisis clínicos de Lima, según la metodología del - analizador.

Analizar la exactitud en la determinación de Inmunoglobulina E total en laboratorios de análisis clínicos de Lima, según la metodología del analizador.

PARTICIPACIÓN y PROCEDIMIENTO

La participación del laboratorio en el estudio, es totalmente voluntaria.

El laboratorio se compromete a llenar el formulario *calidad metrológica* donde consignará información sobre la ubicación del laboratorio, nombre y teléfonos de los contactos y datos del procesamiento como reactivos, método, equipo y forma de medición de la muestra.

Las muestras serán entregadas en crioviales y en cadena de frío, en fechas comunicadas oportunamente; estas se entregarán al laboratorio participante el cual deberá realizar el análisis de dos muestras, rotuladas con las letras A y B, de valor desconocido para el laboratorio participante. A cada una de las muestras se les realizará la determinación de la concentración de Inmunoglobulina E total, en condiciones de rutina y luego el laboratorio participante se compromete a enviar los resultados de manera electrónica al correo electrónico generado para el proyecto: calidadmetrologica@gmail.com o ingrid8tg@gmail.com

RIESGOS DEL ESTUDIO

Las muestras de suero pool o control, son de origen humano y han sido probadas para Virus de la Inmunodeficiencia (VIH 1, VIH 2) de anticuerpos, la hepatitis B antígeno de superficie (HBsAg), y virus de hepatitis C (VHC) anticuerpos y se comprobó que no son reactivos. Sin embargo, dado que ningún método puede garantizar por completo la ausencia de agentes infecciosos, este material de la misma manera que las muestras de pacientes deben ser tratados como potencialmente infecciosas, por lo que deben ser manipuladas con las medidas de bioseguridad intralaboratorial.

BENEFICIOS DEL ESTUDIO

Es importante señalar que el laboratorio participante recibirá vía correo electrónico a la dirección de contacto, la información de los resultados individuales de su propio laboratorio y los rangos e intervalos de los resultados y valores máximos y mínimos de los demás laboratorios participantes en el estudio de manera anónima.

Al finalizar el estudio se entregará un certificado de participación en el proyecto de investigación firmado y sellado por el director de la Escuela Académico Profesional de Tecnología Médica y el asesor de la investigación.

COSTOS DE PARTICIPACIÓN

El estudio NO TIENE NINGUN COSTO, para el laboratorio participante es totalmente gratuito.

CONFIDENCIALIDAD

Toda la información en el estudio es completamente confidencial, solamente el director del proyecto conocerá la identidad del laboratorio y sus resultados.

Ningún laboratorio identificará o conocerá los resultados de otro laboratorio, ni se informará que laboratorios están participando del proyecto.

REQUISITOS DE LA PARTICIPACIÓN

El laboratorio participante debe responder el formulario calidad metrológica, consignando la información solicitada, enviar la declaración voluntaria al correo

electrónico del proyecto y además se compromete a realizar los análisis en condiciones de rutina y enviar los resultados al correo electrónico del proyecto.

DONDE CONSEGUIR INFORMACIÓN:

Si desea mayor información debe solicitarla al autor del proyecto Bachiller TM.

INGRID SARITA TORRES GUERRERO al Teléfono 966658286.

Email: ingrid8tg@gmail.com

(Lo que a continuación figura, debe ser copiado y enviado vía correo electrónico a: calidadmetrologica@gmail.com)

Declaración Voluntaria

Yo:

he sido informado(a) de los objetivos del estudio, he conocido los riesgos, beneficios y la confidencialidad de la información obtenida. Entiendo que la participación en el estudio es gratuita. He sido informado(a) de la manera cómo se realizará el estudio y de cómo se tomarán las mediciones. Estoy enterado(a) que no existirá alguna represalia de parte del equipo de investigación de no cumplir con el procesamiento de las muestras y la remisión de los resultados.

Por lo anterior acepto voluntariamente participar en la investigación titulada:

“Calidad intra e interlaboratorial en la determinación de Inmunoglobulina E total en suero en laboratorios de análisis clínicos de Lima – Metropolitana”

Nombre del laboratorio participante:

Fecha: ____/____/2014

ANEXO 5:

Gráfico 12. Nivel I – ECLIA: Resultados respecto al valor de referencia del suero de Nivel I. (Media \pm 3 DS).

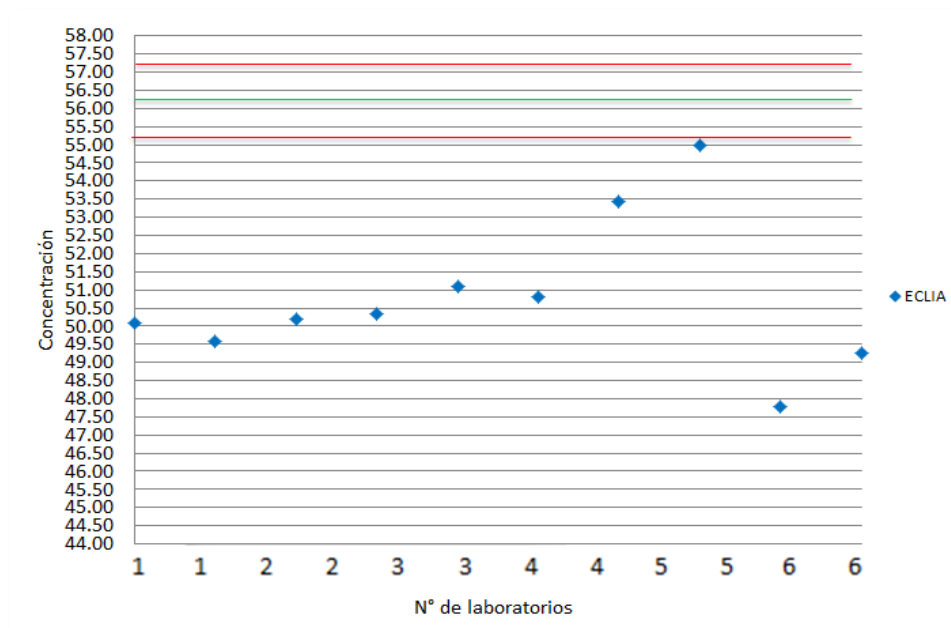


Gráfico 13. Nivel I – RATIO: Resultados valorados como RATIO respecto al valor de referencia del suero de Nivel I (Media \pm 3 DS).

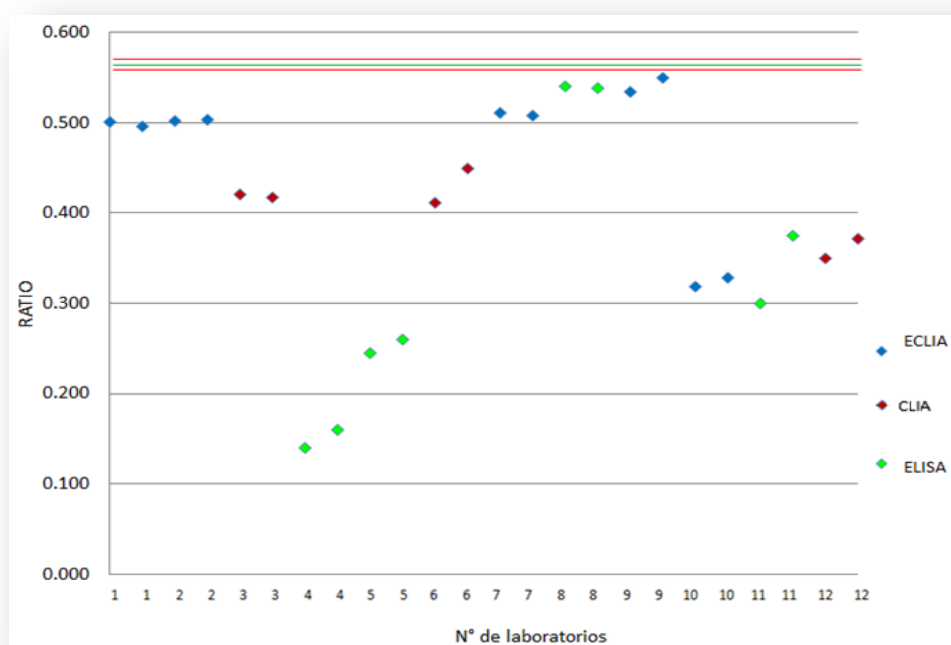


Gráfico 14. Nivel II – ECLIA: Resultados respecto al valor de referencia del suero de Nivel II (Media \pm 3 DS)

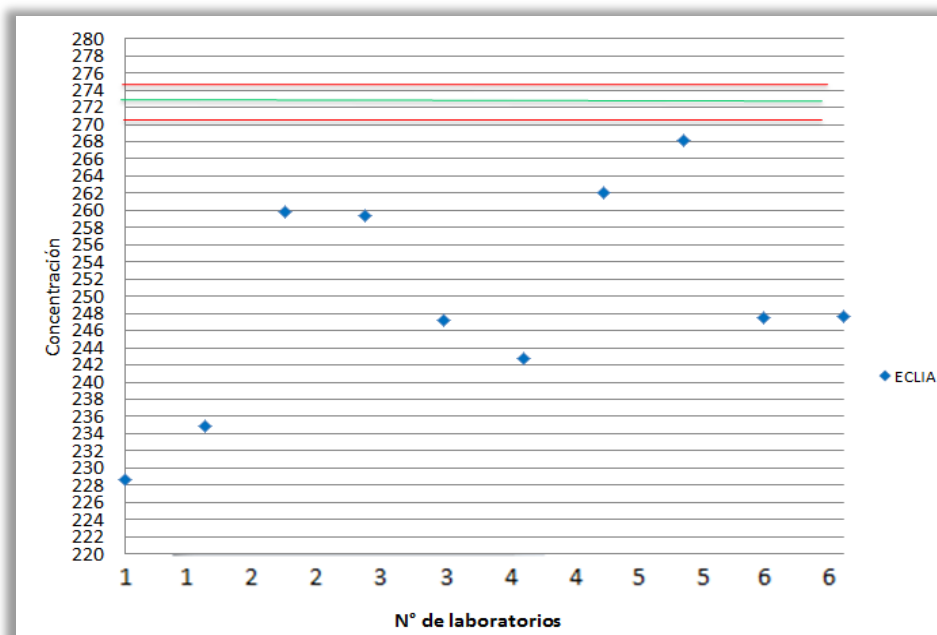
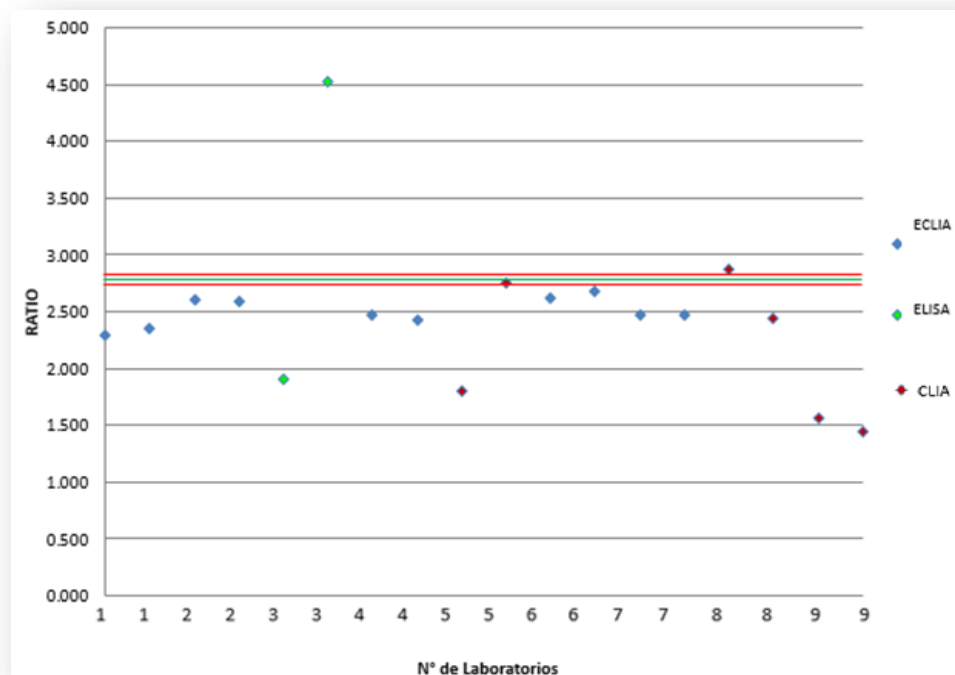


Gráfico 15. Nivel II – RATIO: Resultados en RATIO respecto al valor teórico del suero de Nivel II(Media \pm 3 DS).



**ANEXO 6: FOTOGRAFÍAS DE LA EXTRACCIÓN, ALICUOTADO Y
TRANSPORTE DE MUESTRAS.**





